

# Biologisch aktive Verbindungen in Chrysopidae, Coccinellidae und Lepidoptera

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften  
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina

zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat)

genehmigte

D i s s e r t a t i o n

von Nico Klewer

aus Magdeburg

1. Referent: Prof. Dr. Stefan Schulz

2. Referentin: Prof. Dr. Monika Mazik

eingereicht am: 30.01.2008

mündliche Prüfung (Disputation) am: 23.06.2008

Druckjahr: 2008

## Vorveröffentlichungen der Dissertation

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

## Publikationen

T. Hartmann, C. Theuring, T. Beuerle, N. Klewer, S. Schulz, M.S. Singer, E.A. Bernays, Specific recognition, detoxification and metabolism of pyrrolizidine alkaloids by the polyphagous arctiid *Estigmene acrea*, *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **2005**, 35, 391.

T. Beuerle, C. Theuring, N. Klewer, S. Schulz, T. Hartmann, Absolute configuration of the creatonotines and callimorphines, two classes of arctiid-specific pyrrolizidine alkaloids, *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **2007**, 37, 80.

N. Klewer, Z. Růžicka, S. Schulz, (Z)-Pentacos-12-ene, an oviposition deterring pheromon of *Cheilomenes sexmaculata*, *J. Chem. Ecol.*, **2007**, 33, 2167.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Themenstellung</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Einfluss von Pheromonen auf die Eiablage</b>	<b>4</b>
3.1	Einleitung . . . . .	4
3.1.1	Florfliegen . . . . .	7
3.1.2	Marienkäfer . . . . .	8
3.2	<i>Chrysopa oculata</i> . . . . .	10
3.2.1	Allgemeines . . . . .	10
3.2.2	Proben . . . . .	10
3.2.3	Chromatographie . . . . .	11
3.2.4	Ergebnisse . . . . .	13
3.3	<i>Chrysopa perla</i> . . . . .	24
3.3.1	Allgemeines . . . . .	24
3.3.2	Proben . . . . .	24
3.4	<i>Cheilomenes sexmaculata</i> . . . . .	26
3.4.1	Allgemeines . . . . .	26
3.4.2	Proben . . . . .	26
3.4.3	Chromatographie . . . . .	29
3.4.4	Ergebnisse . . . . .	29
3.5	<i>Ceratomegilla undecimnotata</i> . . . . .	37
3.5.1	Allgemeines . . . . .	37
3.5.2	Proben . . . . .	37
3.6	<i>Cycloneda limbifer</i> . . . . .	39

---

3.6.1	Allgemeines . . . . .	39
3.6.2	Proben . . . . .	39
3.7	<i>Harmonia dimidiata</i> . . . . .	41
3.7.1	Allgemeines . . . . .	41
3.7.2	Proben . . . . .	41
3.8	Diskussion . . . . .	43
<b>4</b>	<b>Pyrrolizidinalkaloide und Pheromone bei <i>Estigmene acrea</i></b>	<b>48</b>
4.1	Einleitung . . . . .	48
4.2	<i>Estigmene acrea</i> . . . . .	51
4.3	Metabolismus von Pyrrolizidinalkaloiden bei <i>Estigmene acrea</i> . . . . .	52
4.3.1	Metabolisierung von Creatonotin B . . . . .	52
4.3.2	Hydroxydanaidalgehalt in Abhängigkeit von der Alkaloidquelle .	57
4.3.3	Biosynthese von Lycopsamin-Typ Alkaloiden . . . . .	60
4.4	Diskussion . . . . .	63
<b>5</b>	<b>Zucker als Hochzeitsgeschenk</b>	<b>66</b>
5.1	Einleitung . . . . .	66
5.2	Extrakt von <i>Eucereon varium</i> . . . . .	67
5.3	Strukturaufklärung . . . . .	68
5.3.1	Allgemeine Vorgehensweise . . . . .	68
5.3.2	Ermittlung der Hydrolyseparameter . . . . .	71
5.3.3	Hydrolyse der Naturprobe . . . . .	76
5.3.4	NMR-Spektroskopie . . . . .	79
5.3.5	Massenspektrometrie . . . . .	82
5.4	Diskussion . . . . .	84
<b>6</b>	<b>2,4-Dihexadecylfuran in <i>Pseudaletia unipuncta</i></b>	<b>86</b>
6.1	Einleitung . . . . .	86
6.2	Extrakte . . . . .	89
6.3	Isolierung und Strukturaufklärung . . . . .	94
6.4	Synthesen . . . . .	96
6.4.1	Synthese von 2,5-Dihexadecylfuran . . . . .	96

6.4.2	Synthese von 2,4-Dihexadecylfuran . . . . .	97
6.5	Ergebnis . . . . .	103
6.6	Diskussion . . . . .	103
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>108</b>
<b>8</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>110</b>
8.1	Allgemeines . . . . .	110
8.2	Derivatisierungen . . . . .	111
8.3	Fraktionierung der Extrakte von <i>Chrysopa oculata</i> . . . . .	112
8.4	Fraktionierung der Extrakte von <i>Cheilomenes sexmaculata</i> . . . . .	114
8.5	Analyse von Kohlenhydraten . . . . .	115
8.6	Anreicherung des Naturstoffs von <i>Pseudaletia unipuncta</i> . . . . .	115
8.7	Synthesen . . . . .	116
8.7.1	Darstellung von Trifluormethansäuredodecylester . . . . .	116
8.7.2	Darstellung von 12-Pentacosin . . . . .	117
8.7.3	Darstellung von ( <i>Z</i> )-12-Pentacosen . . . . .	118
8.7.4	Darstellung von (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> )-2-Hydroxy-3-methylpentansäure . . . . .	118
8.7.5	Darstellung von (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> )-2-Hydroxy-3-methylpentansäure . . . . .	119
8.7.6	Darstellung von (2' <i>S</i> ,3' <i>S</i> )-Creatonotin B . . . . .	120
8.7.7	Darstellung von (2' <i>R</i> ,3' <i>R</i> )-Creatonotin B . . . . .	121
8.7.8	Darstellung von (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )-2-Hydroxy-3-methylpentansäure . . . . .	122
8.7.9	Darstellung von 2-Oxoisovaleriansäure . . . . .	123
8.7.10	Darstellung von 2-Oxovaleriansäuremethylester . . . . .	123
8.7.11	Darstellung von Methyl- 2-( <i>tert</i> -butyldimethylsilyloxy)-3-methyl- but-2-enoat . . . . .	124
8.7.12	Darstellung von 2,5-Dihexadecylfuran . . . . .	125
8.7.13	Darstellung von 4-Eicosanolid . . . . .	126
8.7.14	Darstellung von Methansulfonsäurehexadecylester . . . . .	127
8.7.15	Darstellung von 1-Iodhexadecan . . . . .	128
8.7.16	Darstellung von 2-Hexadecyl-4-butanolid . . . . .	128
8.7.17	Darstellung von Ethyl-(phenylthio)acetat . . . . .	129
8.7.18	Darstellung von Ethyl-4,4-dimethoxy-2-(thiophenyl)butyrat . . . . .	130

---

8.7.19	Darstellung von 2-(2,2-Dimethoxyethyl)-2-thiophenyl-octadecan- säureethylester . . . . .	131
8.7.20	Darstellung von 2-(2,2-Dimethoxyethyl)-2-thiophenyloctadecanol	132
8.7.21	Darstellung von 3-Hexadecylfuran . . . . .	133
8.7.22	Darstellung Trifluormethansulfonsäurehexadecylester . . . . .	134
8.7.23	Darstellung von 2,4-Dihexadecylfuran . . . . .	135
8.7.24	Darstellung von 5-Hexadecyl-2-(thiophenyl)furan . . . . .	136
8.7.25	Darstellung von 3-Brom-5-hexadecyl-2-(thiophenyl)furan . . . .	137
<b>9</b>	<b>Abkürzungen</b>	<b>138</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>146</b>
<b>A</b>	<b>Anhang</b>	<b>147</b>

# 1 Einleitung

Die Erforschung von Naturstoffen stellt ein großes Arbeitsgebiet der Naturwissenschaften dar. Dabei ist die Grenze zwischen der Chemie und Biologie fließend. Auch wenn viele Naturstoffe wie z.B. Penicillin, Taxol und Chinin gut erforscht sind und Einzug in die menschliche Gesellschaft gehalten haben, gibt es noch viele Möglichkeiten für Grundlagenforschung.

Die Funktionen von Naturstoffen bzw. Sekundärmetaboliten können sehr vielfältig sein. Unter Sekundärmetaboliten versteht man Verbindungen, die spezifisch von einem Organismus produziert werden, aber für dessen Überleben (anscheinend) nicht zwingend erforderlich sind. Eine wichtige Rolle spielen sie als extrazelluläre Signalstoffe, sogenannte Semiochemikalien. Diese Stoffe können innerhalb einer Art (intraspezifisch) oder zwischen verschiedenen Arten (interspezifisch) wirksam sein. Im ersten Fall spricht man von Pheromonen (griech. pherein = übertragen und hormon = erregend). Je nach biologischer Funktion werden die Pheromone in Alarm-, Sexual-, Aggregations- und Spurpheromon unterschieden. Am besten erforscht sind die attraktiven Wirkungen von Pheromonen, aber auch abstoßend wirkende Pheromone spielen in den Beziehungen der Arten untereinander eine wichtige Rolle. So wird z.B. durch Pheromone, die die Eiablage von Weibchen verhindern, Nahrungskonkurrenz unter den Jungtieren verhindert. Dieses Phänomen wird in Kap. 3 am Beispiel der Florfliege *Chrysopa oculata* und des Marienkäfers *Cheilomenes sexmaculata* beschrieben.

Semiochemikalien, die interspezifisch wirken, werden als Allelochemikalien bezeichnet. Allerdings ist die Trennung zwischen Pheromon und Allelochemikalie nicht immer ganz eindeutig, denn eine Substanz kann gleichzeitig gegenüber einem Artgenossen als Pheromon, aber auf ein Individuum einer anderen Art als Allelochemikalie wirken.

Eine weitere wichtige Funktion von Naturstoffen ist die Verteidigung gegen Prädatoren oder Parasiten. Besonders bei Pflanzen ist die chemische Verteidigung wichtig, da im



Gefahrenfall eine Flucht ausgeschlossen ist. In vielen Fällen bilden die Pflanzen Alkaloide um sich auf diese Weise vor Fraßfeinden zu schützen. Durch evolutionäre Anpassung sind allerdings einige Arten von Schmetterlingen resistent gegen diese Alkaloide und können von der Pflanze fressen. Auf diese Weise gelangen die Alkaloide in den tierischen Organismus und werden vom Insekt für die eigene Verteidigung eingesetzt. Durch chemische Modifikation kann ein Teil dieser Alkaloide in das Sexualpheromon der Tiere umgewandelt werden. Auf diese Weise haben die Alkaloide zwei verschiedene Funktionen. Bei der Paarung dieser Tiere kann ein Teil der männlichen Alkaloide auf das Weibchen übertragen werden, so dass Naturstoffe auch „Hochzeitsgeschenke“ sein können. Ein gut untersuchtes Beispiel für dieses Phänomen ist der Bärenspinner *Utetheisa ornatrix*. In Kap. 4 wird auf die Bedeutung von Pyrrolizidinalkaloide für den Bärenspinner *Estigmene acrea* eingegangen. Die Struktur des „Hochzeitsgeschenks“, dass die Männchen von *Eucereon varium* bei der Paarung an die Weibchen übertragen wird in Kap. 5 aufgeklärt.

Bei der Erforschung von Naturstoffen ist in der Regel die Strukturaufklärung von entscheidender Bedeutung. Da die Naturstoffe oft in sehr kleinen Mengen auftreten ist die Aufklärung der Struktur eine große Herausforderung und erfolgt auf spektroskopischem Wege. Durch Synthese eines Moleküls und Vergleich der spektroskopischen Daten kann ein Strukturvorschlag bestätigt oder verworfen werden. Im Kap. 6 wird diese Vorgehensweise am Beispiel einer Wachskomponente von *Pseudaletia unipuncta* gezeigt.

## 2 Themenstellung

Ein Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit ist die Identifizierung der Pheromone, die bei der Florfliege *Chrysopa oculata* und bei dem Marienkäfer *Cheilomenes sexmaculata* die Eiablage von Weibchen hemmen. Diese Verbindungen werden von den Larven abgegeben. Von Dr. Z. Růžička der Tschechischen Akademie der Wissenschaften in České Budějovice wurden Larvenextrakte zur Verfügung gestellt. Durch säulenchromatographische Fraktionierung und Verfolgen der Aktivität mit Biotests sollte ein Verfahren zu ihrer Identifizierung erarbeitet werden.

Im zweiten Teil der Arbeit sollte der Metabolismus des Pyrrolizidinalkaloids Creatonotin B im Bärenspinners *Estigmene acrea* untersucht werden. Dieses Alkaloid wurde für Fütterungsexperimente synthetisiert. Ausserdem sollte die absolute Konfiguration von Creatonotin B in *E. acrea* bestimmt werden. Darüber hinaus sollte die Bildung des Sexualpheromons Hydroxydanaidal in Abhängigkeit von der Alkaloidquelle untersucht werden. Für biosynthetische Untersuchungen mussten neue Alkaloide des Lycopsamin-Typs synthetisiert werden.

Bei der Paarung überträgt das Männchen der Motte *Eucereon varium* spezielle Nährstoffe auf das Weibchen. Die Analyse dieser Nährstoffe stellt einen weiteren Teil dieser Arbeit dar.

Im letzten Teil der Arbeit sollte eine bisher unbekannte Verbindung in den Kutikularwachsen der Motte *Pseudaletia unipuncta* analysiert werden. Aus den spektroskopischen und spektrometrischen Daten sollte ein Strukturvorsachlag ermittelt werden. Durch Synthese sollte dieser auf Richtigkeit überprüft werden.

## 3 Einfluss von Pheromonen auf die Eiablage

### 3.1 Einleitung

Die Wahl des Eiablageplatzes wird bei vielen Insekten durch Pheromone beeinflusst. Die Wirkung dieser Pheromone kann dabei entweder abstoßender oder stimulierender Natur sein, wobei die abstoßenden Pheromone eine weit größere Rolle spielen. Stimulierende Pheromone wurden bisher nur bei wenigen Insektenspezies beschrieben, während die abstoßende Wirkung von Verbindungen bei über 100 Spezies nachgewiesen wurde [1]. Diese Verbindungen werden als sog. 'oviposition deterring pheromones' (=ODP) bezeichnet [2].

ODP´s signalisieren trächtigen Weibchen, dass der gewählte Platz zur Eiablage bereits von art eigenen Eiern oder Larven belegt ist. Eine Eiablage an diesen Plätzen würde zu einer Überbevölkerung führen. Die Folge davon ist eine verstärkte Nahrungskonkurrenz, was unter Umständen sogar zu Kannibalismus führen kann, bei dem ältere Larven die Eier oder jüngere Larven fressen [3]. Die ODP können durch das erwachsene Weibchen oder durch die geschlüpften Larven produziert werden. Die vom Weibchen produzierten ODP können ein Bestandteil der Eier sein oder sie werden vom Weibchen nach der Eiablage nahe der Eier deponiert.

Die Produktionsstätte der Pheromone ist bei vielen Arten unbekannt. Bei den meisten der bisher bekannten Fällen werden die ODP, die das Weibchen emittiert, im Abdomen hergestellt und zusammen mit Kot während des 'ovipositor dragging' abgegeben. Eine weitere Möglichkeit ist die Abgabe über das zum Ovipositor gehörende Drüsengewebe [1]. Die direkt zu den Eiern gehörenden ODP befinden sich entweder an der Oberfläche der Eier oder im „Klebstoff“ mit dem die Eier am Substrat befestigt werden. Zum

Beispiel vermeiden Weibchen des europäischen Maisstengelbohrer *Ostrinia nubilalis* die Eiablage bei Substraten die mit einem methanolischen Extrakt der Eier behandelt wurden [4].

Es ist bekannt, dass Larven die gleichzeitig mit trächtigen Weibchen auftreten ebenfalls ODP's produzieren. Die Quelle der von Larven abgegebenen ODP kann dabei sehr unterschiedlich sein. Larven der mediterranen Mehlmotte *Ephestia kuehniella* geben aus ihren Mandibeldrüsen ein Sekret ab, welches abstoßend auf eiablegende Weibchen wirkt [5]. Über die Haut können ebenfalls ODP abgegeben werden. Bei dem Marienkäfer *Cryptolaemus montrouzieri* sind Wachsfilamente, die den Körper der Larve bedecken für die Wirkung als ODP verantwortlich. Verliert die Larve diese Filamente, hinterlässt sie so eine Spur des Abwehrmittels auf dem Substrat [1]. Weitere Quellen können der Kot oder Hervorgewürgtes der Larven sein. Bei der abstoßenden Wirkung des Kots ist es in den meisten Fällen unklar, ob die abstoßenden Verbindungen tatsächlich von der Larve produziert werden oder ob es sich dabei um Verbindungen aus der Nahrung der Tiere handelt, die in der Larve stark angereichert und auf diese Weise für die biologische Wirkung verantwortlich sind [1].

Die Identifikation der aktiven Verbindungen gestaltet sich in den meisten Fällen schwierig. Die Ursachen sind einerseits die geringe Flüchtigkeit der Verbindungen und andererseits die großen Mengen, die für die Analyse benötigt werden. Aus diesem Grunde sind nur in wenigen Fällen die Strukturen der aktiven Komponenten bekannt. Die bisher bekannten ODP's zeigen eine große strukturelle Vielfalt. Das erste überhaupt isolierte Pheromon ist das N[15( $\beta$ -glucopyranosyl)-oxy-8-hydroxypalmitoyl]-taurin (**1**) der europäischen Kirschfruchtfliege *Rhagoletis cerasi* (Abb. 3.1), das von Hurter et al. identifiziert wurde [6]. Dieses Molekül besitzt 2 stereogene Zentren und es gibt daher 4 Stereoisomere. Durch Synthese aller Stereoisomere und Biotests konnte gezeigt werden, dass ein Racemat der beiden Isomere 8*R*,15*S* und 8*S*,15*R* die Eiablage bei arteigenen Weibchen behindert [7]. Aus den Körperextrakten des Zigarettenkäfers *Lasioderma serricorne* konnten die aktiven Verbindungen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Serricoron (**2** und **3**) isoliert werden (Abb. 3.1). Diese beiden Verbindungen epimerisieren sehr leicht, aber natürlich treten beide Isomere auf. In Biotest zeigten die beiden Isomere eine ähnlich starke Aktivität [8]. Bei der Baumwollraupe *Helicoverpa amigera* ist ein Gemisch aus

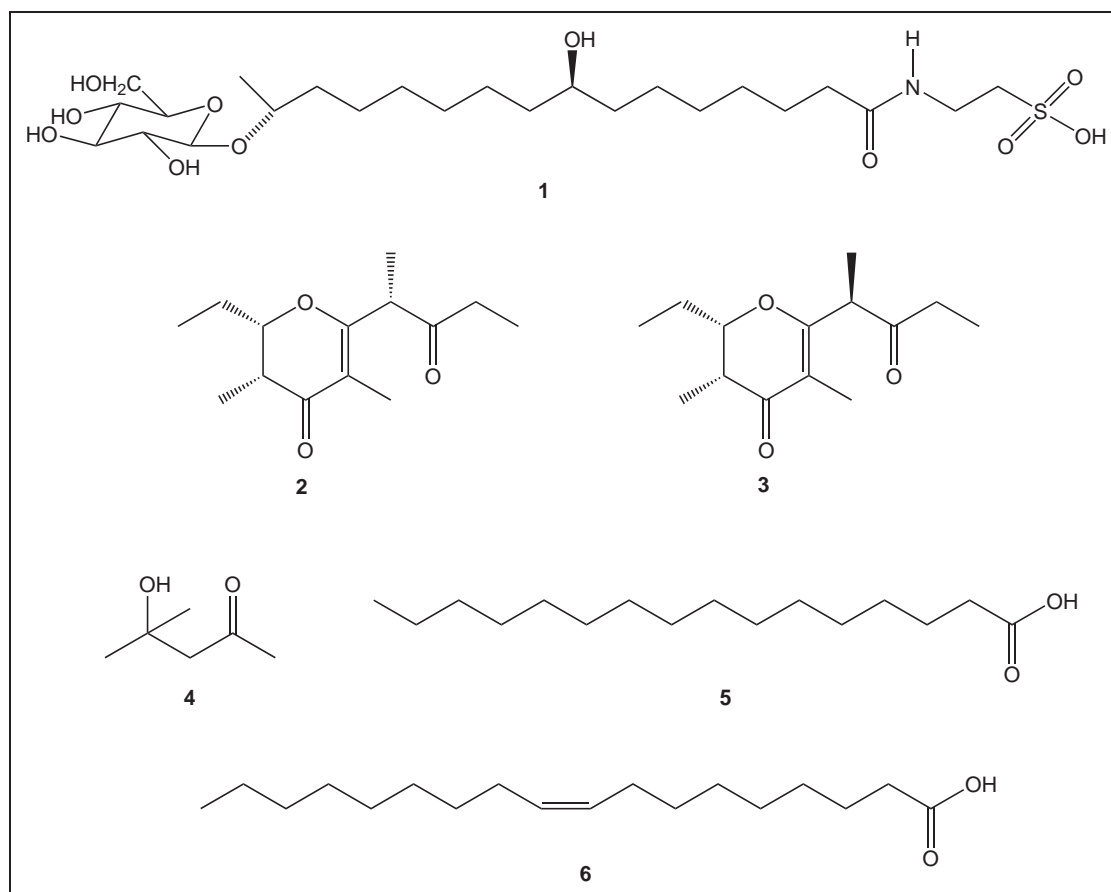


Abbildung 3.1: Oviposition deterring pheromones von *Rhagoletis cerasi* (**1**), *Lasioderma serricornis* (**2**, **3**) und *Helicoverpa armigera* (**4**, **5**, **6**)

4-Methyl-4-hydroxy-pentan-2-on (**4**), Hexadecansäure (**5**) und (*Z*)-9-Octadecensäure (**6**) für die Wirkung als ODP verantwortlich. Die einzelnen Verbindungen sind nicht aktiv [9].

Die Methylester von Fettsäuren wirken bei einigen Arten als ODP. Die in einem Eiextrakt des Traubenwicklers *Lobesia botrana* identifizierten Ester Methyloleat und Methylpalmitat wirken hemmend auf die Eiablage [10], während in *Ostrinia nubilalis* Methylstearat als ODP wirkt [4].

Die Wirkung von ODP's ist nicht immer nur auf die eigene Art beschränkt. Larven des ersten Stadiums der Florfliege *Chrysopa oculata* (Chrysopidae) markieren ihre Umgebung mit einem Sekret aus ihrem Abdomen. Dieses Sekret hält Weibchen davon ab, ihre Eier dorthin zu legen wo bereits Larven vorhanden sind. Ein Chloroformextrakt der Larvenspuren bewirkt ebenfalls einen Rückgang in der Eiablage. Die Reaktion der Weibchen auf Spuren von Larven des dritten Stadiums ist geringer [11]. Weibchen von

*C. oculata* reagieren aber auch auf die Spuren, die Larven der verwandten, aber geographisch isolierten Spezies *Chrysopa perla* hinterlassen und umgekehrt. Das zeigt, dass die Pheromone in beiden Spezies ähnlich oder identisch sind [12].

Auch bei Marienkäfern (Coccinellidae) hindern die Spuren von arteigenen Larven Weibchen bei der Eiablage. Die Larvenspuren von *Cheilomenes sexmaculata* haben einen stark hemmenden Effekt auf die Eiablage von weiblichen Artgenossen. Der chemische Marker ist ausserdem sehr persistent, denn auch 10 Tage alte Spuren haben immer noch einen starken Effekt. Darüber hinaus werden auch interspezifische Wechselwirkungen, bei denen Weibchen der einen Spezies auf die Spuren von Larven einer anderen verwandten Spezies reagieren, beobachtet. So wurde gezeigt, dass Weibchen von *C. sexmaculata* von der Eiablage abgehalten werden, wenn sich auf dem Substrat Spuren von Larven von *Ceratomegilla undecimnotata* oder *Cycloneda limbifer* befinden [13]. Die interspezifischen Effekte können auch zwischen Spezies verschiedener taxonomischer Ordnungen auftreten. Die Weibchen des Marienkäfers *Coccinella septempunctata* reagieren neben arteigenen Larvenspuren auch auf solche der Larven von *C. oculata*. Umgekehrt ist die Reaktion von *C. oculata* auf die Spuren von *C. septempunctata* zu vernachlässigen. Dieser Unterschied in der Reaktion auf heterospezifische ODP zeigt, dass die ODP der Larven beider Spezies unterschiedlich sind [14].

Da die chemische Zusammensetzung der Spuren nicht bekannt ist, ist es Teil der vorliegenden Arbeit die Inhaltsstoffe der Spuren bzw. der Larven der Chrysopiden *C. oculata* und *C. perla* zu untersuchen, um dadurch Hinweise zu erhalten, welche Substanz(en) für die Funktion als ODP verantwortlich ist(sind). Daneben wurde versucht die OPD's in den Coccinelliden *C. sexmaculata*, *C. undecimnotata*, *C. limbifer* und *Harmonia dimidiata* zu bestimmen. Ein Hauptaugenmerk lag dabei bei *C. sexmaculata*. Über die interspezifischen Wechselwirkungen wurde anschließend versucht auf die OPD's der anderen Coccinelliden zu schließen.

### 3.1.1 Florfliegen

Die Familie der Florfliegen (Chrysopidae) gehört zur Ordnung der Netzflüger (Neuroptera). Es existierten drei Unterfamilien und über 1300 Arten [15]. In Abb. 3.2 ist die taxonomische Einordnung der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Florfliegen ge-

zeigt. Die erwachsenen Tiere werden zwischen 10–15 mm groß und zeichnen sich durch die Gelb- oder Grünfärbung des Körpers und der Flügeladerung aus. Sie haben vorstehende Augen, die einen metallischen Glanz haben. Daher werden Florfliegen oft auch Goldaugen genannt. Die großen, hellen und schillernden Flügel werden in Ruhestellung über dem Hinterleib dachartig zusammengelegt. Sie werden von einem System aus Längs- und Queradern durchzogen, was ihnen eine florartige Wirkung verleiht. Darauf ist auch der deutsche Name Florfliege zurückzuführen. Die Eier werden in Gruppen abgelegt und jedes Ei ist an einem Stiel aus schnelltrocknendem Sekret befestigt, dessen Funktion noch nicht ausreichend geklärt ist. Die schlüpfenden Larven durchlaufen bis zu vollständigen Entwicklung drei Stadien.

Die Verbreitung der Florfliegen ist weltweit. Die meisten Florfliegenarten leben räuberisch und ernähren sich hauptsächlich von kleineren Insekten. Vor allem Blattläuse bilden die Hauptnahrungsquelle, daher werden Florfliegen in der biologischen Schädlingsbekämpfung als Nützlinge gezüchtet. Es gibt auch Arten, z.B. die Gemeine Florfliege *Chrysoperla carnea* deren Imagines sich von Pollen, Nektar und Honigtau ernähren.

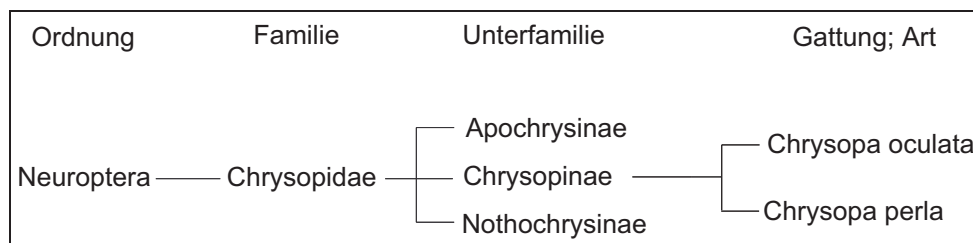


Abbildung 3.2: Taxonomie der untersuchten Florfliegenarten

### 3.1.2 Marienkäfer

Die Familie der Marienkäfer (Coccinellidae) umfasst sieben Unterfamilien und über 5000 Arten. Die taxonomische Einordnung der in dieser Arbeit untersuchten Marienkäferarten ist in Abb. 3.3 dargestellt. Die Körpergröße der kleinen bis mittelgroßen Tiere variiert zwischen 0,8–18 mm. Der Körper ist meist oval bis halbkugelförmig mit einer konvexen dorsalen Körperoberfläche. Das bekannteste äußere Merkmal der Coccinellidae sind die gefärbten mit Punkten oder Flecken versehenen Flügeldecken (Elytren). Die wichtigsten Farben sind gelb, rot, schwarz und braun und schon innerhalb einer

Art zeigt sich eine große Variationsbreite der Färbung und des Punktmusters.

Marienkäfer durchlaufen in ihrer Entwicklung vier, in Einzelfällen auch fünf Larvenstadien. Die Larven der Unterfamilie Coccinellinae sind in ihrer Morphologie räuberischen Käferlarven typisch. Der Körper ist langgestreckt und deutlich in Kopf, Thorax und Abdomen unterteilt und mit verschieden, teilweise sehr auffälligen Borsten versehen. Die Größe der Larven reicht von 1,5 mm (frischgeschlüpfte Larve) bis 15 mm bei Larven im Endstadium.

Die Familie der Coccinellidae ist über die ganze Erde verbreitet, die Hauptvorkommen befinden sich in den Tropen und Subtropen. Nach kälteren Gebieten hin nimmt der Artenreichtum ab, so dass sich z.B. in Europa ein Artengefälle von Süden nach Norden beobachten lässt. Sie besiedeln u.a. Wälder, Wiesen, Heiden und Moore, aber auch Parks und Gärten zählen zu ihren Lebensräumen. Diese Lebensräume hängen stark von der dort vorhandenen Nahrung ab. Die Hauptnahrungsquelle der räuberischen Marienkäfer besteht aus Blatt- und/oder Schildläusen, was sie zu Nützlingen macht, die in der biologischen Schädlingsbekämpfung eingesetzt werden. Es gibt aber auch Arten, die sich pflanzlich ernähren (Unterfamilie Epilachninae), und auch mycophage Coccinelliden kommen vor. So ernähren sich die Vertreter des Tribus Psylloborini ausschließlich von Mehltaupilzen. Bei Nahrungsknappheit und Überbevölkerung kann es zu Kannibalismus kommen. Dabei fressen ältere Larven jüngere oder noch nicht geschlüpfte Eier [16, 17].

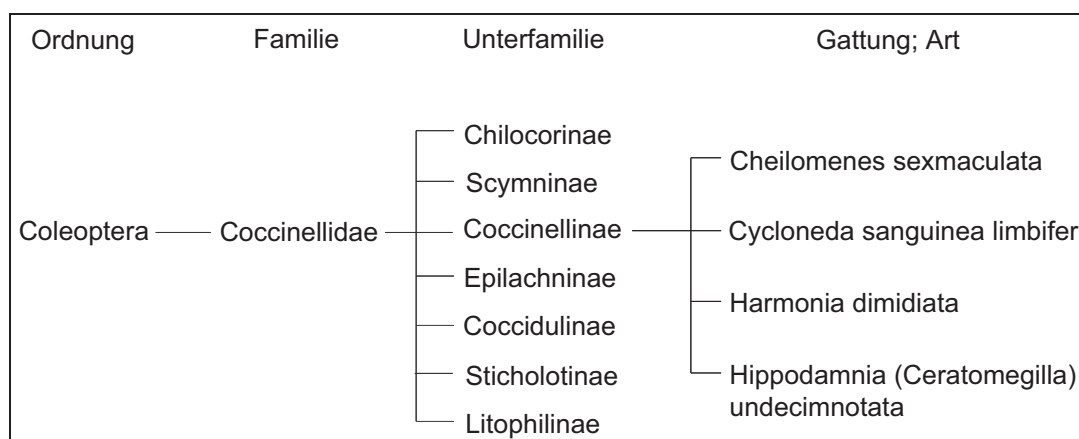


Abbildung 3.3: Taxonomie der untersuchten Marienkäferarten



## 3.2 *Chrysopa oculata*

### 3.2.1 Allgemeines



Abbildung 3.4: Larve von *Chrysopa oculata*<sup>[19]</sup>

*Chrysopa oculata* (Abb. 3.4) ist in Nordamerika und im Norden von Mexiko beheimatet [18]. Dort werden Wiesen mit niedriger Vegetation, Bäume oder Feldfrüchte besiedelt. In ihrem Lebensraum sind sie wichtige Predatoren für Blattläuse, Milben und Gliederfüßer [20]. Die Hauptverbreitungszeit ist der Spätsommer. Die Larven des dritten Stadiums überwintern in Kokons.

### 3.2.2 Proben

Extrakte von *Chrysopa oculata* wurden von Dr. Zdeněk Růžicka an der Tschechischen Akademie der Wissenschaften in České Budějovice (Tschechien) hergestellt. Dazu wurden für jede Probe 5000 Larven im ersten Stadium mit 20 ml Chloroform extrahiert. Nach Erhalt wurden diese Extrakte eingengt und gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht. In Abb. 3.5 ist das Totalionenchromatogramm eines solchen Chloroformextraktes (Probe COC29) dargestellt.

Die Extrakte bestehen hauptsächlich aus Alkanen. Die Hauptkomponenten sind dabei die ungeradzahligen Alkane Heptacosan, Nonacosan und Hentriacontan mit Anteilen von 35 %, 15 % und 16 %. Daneben kommen ab dem Heptacosan auch methylverzweigte Alkane in den Chloroformextrakten vor. Die Methylverzweigung befindet sich dabei in der 3-, 5- und 13-Position. Ab dem Nonacosan treten zusätzlich noch Methylverzweigungen in der 11- und 15-Position auf. Des Weiteren sind ab dem Nonacosan auch dimethylverzweigte Alkane in den Extrakten vorhanden. Die Methylgruppen befinden sich in diesen Fällen in den 9,13-, 11,15- und 13,17-Positionen. Ein Teil der Chloroformextrakte wurde mit MSTFA derivatisiert um polare Verbindungen nachweisen zu können. In einigen Extrakten konnten auf diese Weise verschiedene nicht näher bestimmte Zucker nachgewiesen werden. Allerdings kann es sich in diesen Fällen auch

um Verunreinigungen handeln, denn nicht in allen Extrakten konnten diese polaren Verbindungen nachgewiesen werden.

Zusätzlich zu den Extrakten der Larven wurden auch die Spuren untersucht, die die Larven auf Glas (Probe COC 24) bzw. Papier (Probe COC 27) hinterlassen haben. In den Spuren der Tiere sind zusätzlich zu den Alkanen (in den MSTFA-derivatisierten Proben) Fettsäuren nachweisbar, von denen die Hexadecansäure die Hauptkomponente bildet. Die Proben der Spuren auf Papier erwiesen sich als unbrauchbar, da bei der Extraktion der Spuren mit Dichlormethan zuviele Fremdverbindungen aus dem Papier extrahiert wurden.

### 3.2.3 Chromatographie

Die Extrakte von *C. oculata* wurden fraktioniert und die Fraktionen wurden für Bio-tests zur Verfügung gestellt. Die Probe COC 22, die ein Extrakt von 1250 Larven im ersten Stadium ist, wurde säulenchromatographisch an Kieselgel getrennt. Als Laufmittel wurden Pentan, Pentan/Dichlormethangemische, Dichlormethan und Methanol verwendet. Alle anderen Proben wurden an Sephadex LH-20 als stationärer Phase mit Dichlormethan/Methanol 1:1 als Laufmittel getrennt. Es wurden je nach Probe zwischen 40-50 Fraktionen gewonnen und Fraktionen gleicher Zusammensetzung wurden vereint.

Durch den Übergang von Kieselgel zu Sephadex konnten unterschiedliche Trennmechanismen angewendet werden. Wegen der freien OH-Gruppen bei der Verwendung von Kieselgel beruht die Trennung von Molekülen auf deren Polarität. Polarere Verbindung werden stärker zurückgehalten, während unpolare Substanzen schnell eluieren. Dagegen werden bei Sephadex die Moleküle auf Grund ihrer Größe getrennt. Sephadex LH-20 ist ein Gel aus quervernetzten Dextranen, die mit Hydroxypropylgruppen modifiziert sind. Die Porengröße im gequollenen Gel ist abhängig vom verwendeten Lösungsmittel. Moleküle, die größer sind als die Poren können nicht in diese diffundieren und werden daher relativ schnell eluiert. Danach eluieren die kleineren Moleküle, die in die Poren eindringen konnten. Sephadex LH-20 ist zusätzlich noch mit einer lipophilen Oberfläche versehen, so dass unpolare Verbindungen an dieser Oberfläche stärker zurückgehalten werden als polare Verbindungen.

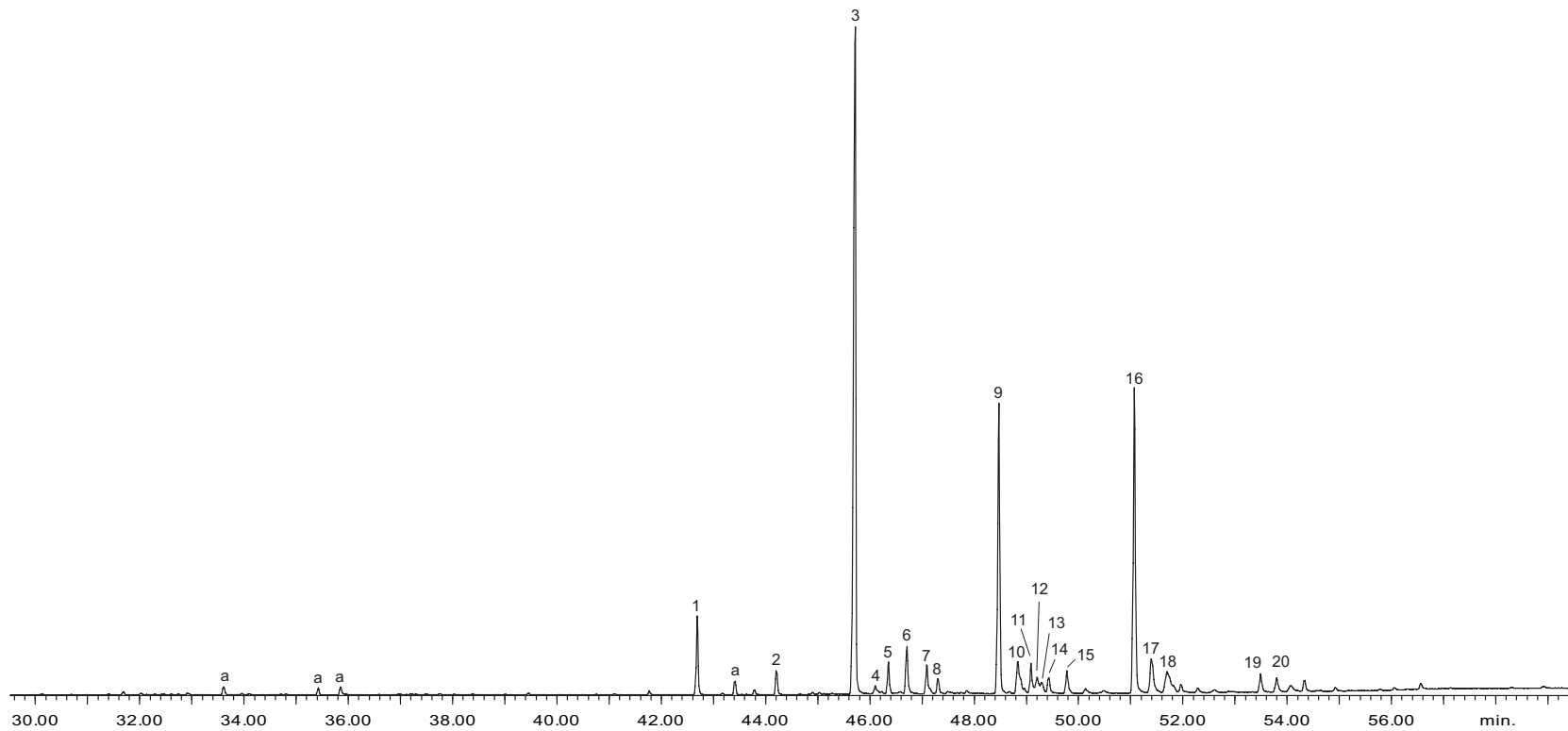


Abbildung 3.5: Totalionenchromatogramm eines Chloroformextrakts von Larven von *Chrysopa oculata*.

1) Pentacosan, 2) Hexacosan, 3) Heptacosan, 4) 13-Methylheptacosan, 5) 5-Methylheptacosan, 6) 3-Methylheptacosan, 7) Octacosan, 8) Squalen, 9) Nonacosan, 10) 11-, 13-, 15-Methylnonacosan, 11) 5-Methylnonacosan, 12) 11,15-, 13,17-Dimethylnonacosan, 13) 9,13-Dimethylnonacosan, 14) 3-Methylnonacosan, 15) Triacontan, 16) Hentriacontan, 17) 11-, 13-, 15-Methylhentriacontan, 18) 13,17-Dimethylhentriacontan, 19) Tritriacontan, 20) Methyltritriacontan

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

### 3.2.4 Ergebnisse

Im folgenden sind die Ergebnisse der Biotests der verschiedenen fraktionierten Extrakte von *C. oculata* dargestellt. Die Biotests wurden von Dr. Zdeněk Růžička wie in [14] beschrieben an der Tschechischen Akademie der Wissenschaften in České Budějovice durchgeführt. Die Zusammensetzung der getesteten Fraktionen wurde in underivatisierter Form und als MSTFA-Derivat gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht.

#### COC-21 (Chloroformextrakt von 1250 Larven des 1. Stadiums)

In Abb. 3.6 ist das Resultat der Biotests mit der Probe COC-21 dargestellt. Bei den Fraktionen COC21c–COC21e ist die Anzahl der gelegten Eier auf dem kontaminierten Substrat erheblich geringer als auf dem mit Chloroform behandelten Kontrollsubstrat. Diese Fraktionen sind sich in ihrer Zusammensetzung sehr ähnlich, lediglich in der quantitativen Zusammensetzung unterscheiden sie sich. So sind in der Fraktion

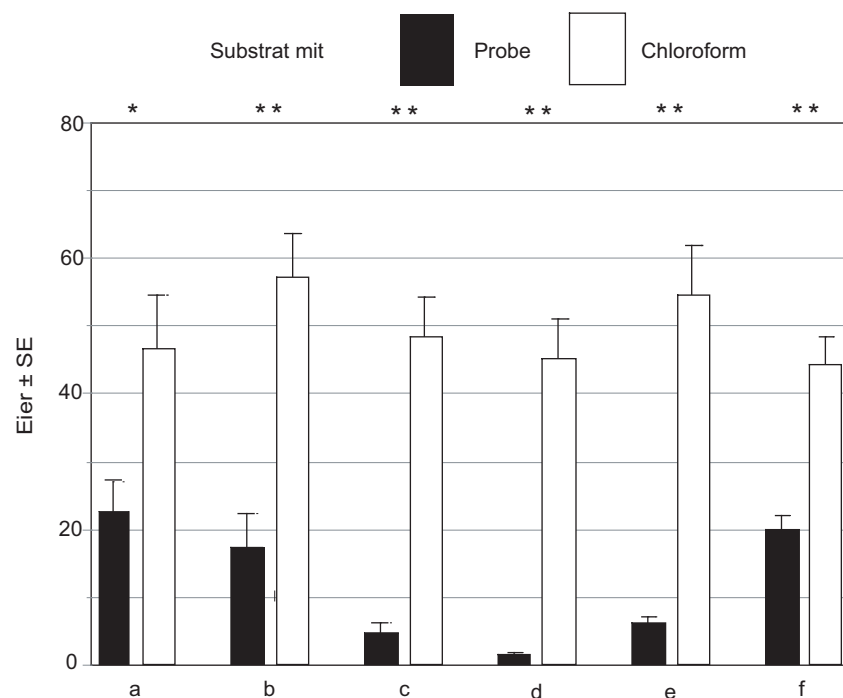


Abbildung 3.6: Anzahl der von *C. oculata* auf das Substrat gelegten Eier. Das Substrat wurde mit Chloroform oder den Fraktionen a–f der Probe COC–21 behandelt.

COC21c Heptacosan und Hentriacontan die Hauptkomponenten, während in der Fraktion COC21d nur noch Heptacosan die Hauptkomponente darstellt. Ausserdem ist in

Fraktion COC21c der Anteil der verzweigten Alkane größer als in der Fraktion COC21d. In der Fraktion COC21e bilden Heptacosan und Phthalate als Verunreinigungen die Hauptkomponenten. Allerdings ist der Anteil der weiteren Verunreinigungen aus dem Chloroform mit dem die Larven extrahiert wurden in dieser Fraktion ziemlich groß.

### COC-22 (Chloroformextrakt von 1250 Larven des 1. Stadiums)

Die Abbildung 3.7 zeigt, dass keine der Fraktionen, die aus der Probe COC-22 hergestellt wurden biologisch aktiv sind. Teilweise wurden sogar auf die mit Proben applizierten Substrate mehr Eier gelegt als auf die nur mit Chloroform versehenen Substrate. Frische Extrakte von Larven des 1. Stadiums (Spalte R) zeigen eine hohe Aktivität genauso wie Extrakte, die mehrere Tage bei Raumtemperatur gelagert wurden (Spalte r). In der Aktivität dieser beiden Extrakte zeigt sich kein signifikanter Unterschied.

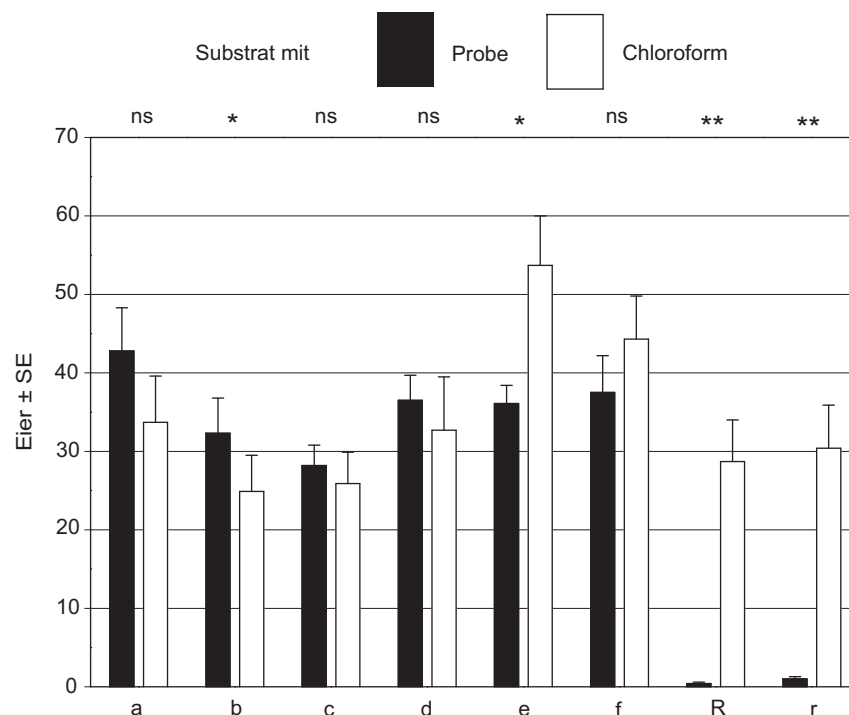


Abbildung 3.7: Anzahl der von *C. oculata* auf das Substrat gelegten Eier. Das Substrat wurde mit Chloroform oder den Fraktionen a–f der Probe COC-22, frischen Larvenspuren (R) und älteren Larvenspuren (r) behandelt

### COC-24 (Spuren von 1750 Larven auf Glas)

Die Resultate der Biotests mit der Probe COC-24 sind in Abb. 3.8 dargestellt. Auf die Substrate, die mit den Fraktionen COC24b und COC24c behandelt wurden, wurden im Vergleich zur Kontrollprobe Chloroform signifikant weniger Eier gelegt. Die Zusammensetzung dieser beiden Fraktionen ist ähnlich. Die Fraktion COC24b enthält hauptsächlich verzweigte und unverzweigte Alkane und Squalen. In der Fraktion COC24c sind neben den Alkanen auch verschiedene Zucker nachweisbar, die allerdings nicht näher bestimmt wurden. Beide Fraktionen sind durch einen erheblichen Anteil von Phthalat kontaminiert. Diese Kontamination ist so gravierend, dass Phthalate die Hauptkomponenten in den Fraktionen sind.

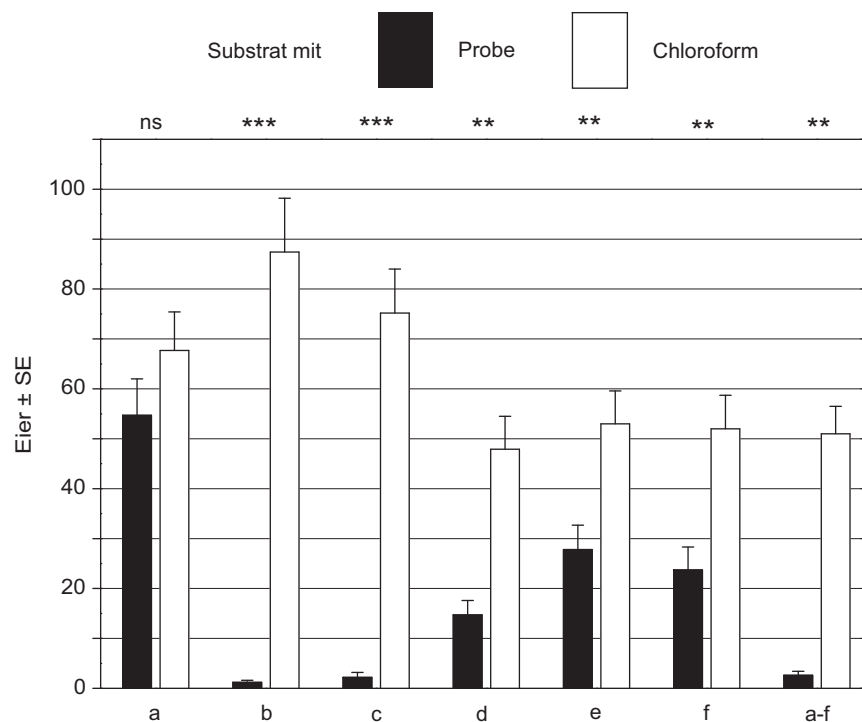


Abbildung 3.8: Anzahl der von *C. oculata* auf das Substrat gelegten Eier. Das Substrat wurde mit Chloroform oder den Fraktionen a–af der Probe COC-24 behandelt.

### COC-30 (Chloroformextrakt von 5000 Larven des 1. Stadiums)

Das Ergebnis der Biotests mit den Fraktionen der Probe COC30 ist in der folgenden Abbildung (Abb. 3.9) dargestellt. Auf die Substrate mit den Fraktionen COC30d und COC30e wurden erheblich weniger Eier gelegt als auf die Kontrollprobe Chloroform. Die Fraktion COC30ag ist eine Mischung aus den Fraktionen COC30a–COC30g und

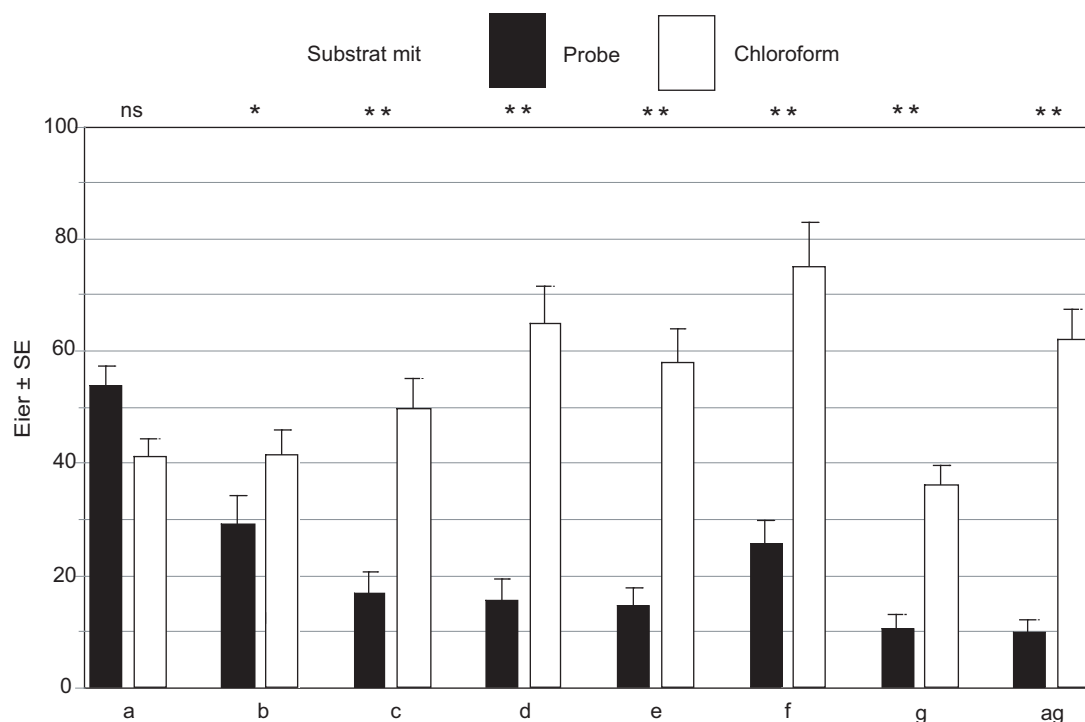


Abbildung 3.9: Anzahl der von *C. oculata* auf das Substrat gelegten Eier. Das Substrat wurde mit Chloroform oder den Fraktionen a–ag der Probe COC-30 behandelt.

enthält damit alle Komponenten der Probe COC30. Sie ist daher erwartungsgemäß aktiv. In der Fraktion COC30d sind die verzweigten und unverzweigten Alkane die Hauptverbindungsklasse. Heptacosan ist die Hauptkomponente mit einem Anteil von 34 %. Neben den Alkanen enthält diese Fraktion auch Fettsäuren, deren Hauptkomponente die Linolsäure ist.

Die Fraktion COC30e enthält ebenfalls die verzweigten und unverzweigten Alkane. Mit einem Anteil von 36 % ist Heptacosan die Hauptkomponente. Daneben liegen in dieser Fraktion auch Fettsäuren, Hexadecansäure (2 %) ist die Hauptkomponente davon, und Zucker bzw. Zuckerderivate vor. Diese wurden allerdings nicht näher untersucht. Da diese Zucker bzw. Zuckerderivate nur in einigen Proben von *C. oculata* enthalten sind, wurde davon ausgegangen, dass diese Verbindungen nicht für die biologische Aktivität verantwortlich sind. Zur weiteren Untersuchung der biologisch aktiven Verbindung(en) erfolgte eine weitere Fraktionierung der Fraktionen COC30d und COC30e an Sephadex LH-20.

### COC-30d

Das Ergebnis der Biotests mit der Fraktion COC30d ist in Abb. 3.10 dargestellt. Es zeigt sich, dass die Fraktionen COC30d/II und COC30d/III die Eiablage von *Chrysopa oculata* am stärksten hemmen. Allerdings ist der Unterschied zwischen behandeltem Substrat und der Kontrollprobe nur gering. Die beiden aktiven Fraktionen unterscheiden sich in ihrer Zusammensetzung schon recht deutlich. Die Fraktion COC30d/II (Abb. 3.11) besteht zu großen Teilen aus den verzweigten und unverzweigten Alkanen, mit Heptacosan als Hauptkomponenten. Daneben bilden Fettsäuren wichtige Verbindungen in dieser Fraktion. Von den Fettsäuren sind Hexadecan- und Octadecansäure am stärksten vertreten, sie sind Nebenkomponten in dieser Fraktion. Andere Fettsäuren, z.B. Tetradecan- und Pentadecansäure sind in Spuren in der Fraktion enthalten. Die Fraktion COC 30d/III (Abb. 3.12) setzt sich hauptsächlich aus Fettsäuren zusammen. Mit Anteilen von 12 % und 18 % sind Hexadecan- und Octadecansäure die Hauptkomponenten. Einen hohen Anteil (12 %) hat auch Phosphorsäure. Öl-, Linol- und 11-Eicosensäure sind Nebenkomponten. Längerkettige Fettsäuren bis hin zu Hexacosansäure konnten in Spuren nachgewiesen werden. Um die Anwesenheit von Substanzen, die sich nicht mit GC-MS untersuchen lassen, zu überprüfen, wurden diese Fraktionen zusätzlich mit ESI-MS in positiver und negativer Ionisation analysiert. Die Messungen waren negativ. Da an dieser Stelle nur noch wenig Probenmaterial vorhanden war, musste auf eine weitere Auftrennung der Fraktionen COC30d/II und COC30d/III verzichtet werden.

### COC-30e

Durch das Fraktionieren von COC30e wurden die 5 Fraktionen COC30e/I–COC30e/V erhalten. Allerdings gab es keinen signifikanten Unterschied in der Anzahl der gelegten Eier zwischen dem mit den Fraktionen behandeltem Substrat und der Kontrollprobe Chloroform. In Abb. 3.13 ist das Resultat der Biotests dargestellt.

### Biotests mit Fettsäuren

Die in den aktiven Fraktionen COC30d/II und COC30d/III enthaltenen Fettsäuren wurde einzeln auf ihre biologische Aktivität untersucht. Dazu wurden Lösungen der



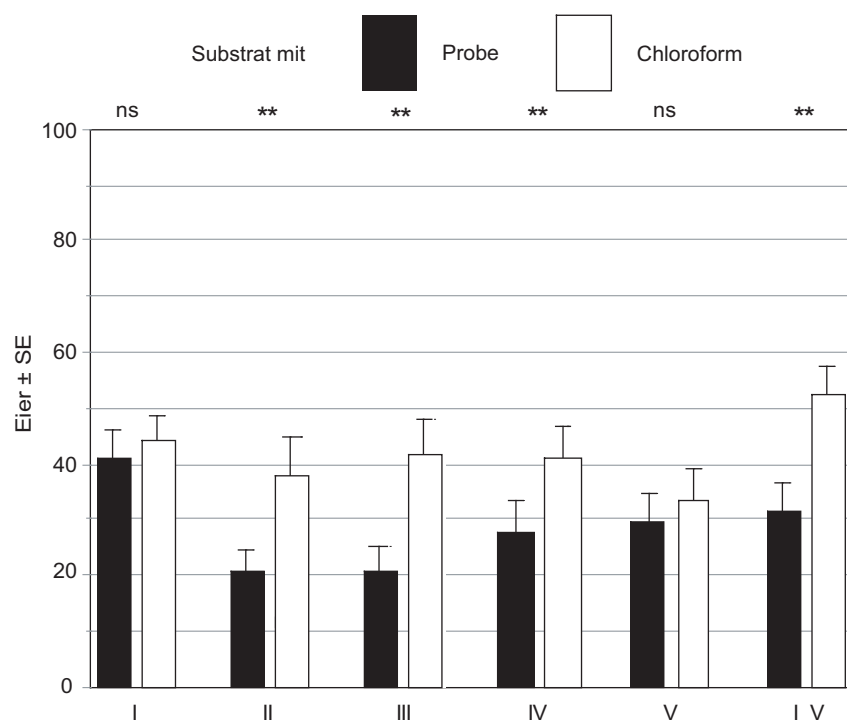


Abbildung 3.10: Anzahl der von *C. oculata* auf das Substrat gelegten Eier. Das Substrat wurde mit Chloroform oder den Fraktionen I–V und der vereinten Fraktion I\_V der Probe COC-30d behandelt.

Fettsäuren mit einer Konzentration von 1 mg/ml in Dichlormethan hergestellt. Zusätzlich dazu wurde eine Mischung der Fettsäuren Palmitinsäure, Stearinsäure, Ölsäure und Linolensäure getestet. Die relativen Mengenverhältnisse der Fettsäuren in dieser Mischung wurden so eingestellt, dass sie dem Verhältnis dieser Fettsäuren in der aktivsten Fraktion COC30d/III entsprechen. Die Ergebnisse der Biotests sind in Abb. 3.14 dargestellt. Die Fettsäuren scheinen eine Bioaktivität aufzuweisen, anscheinend wird die Eiablage von *C. oculata* durch diese Säuren stimuliert und nicht gehemmt.

In der folgenden Tabelle (Tab. 3.1) sind die Inhaltsstoffe der aktiven Fraktionen von *C. oculata* zusammengefasst. Die aktiven Fraktionen der Probe COC21 werden in dieser Aufstellung nicht berücksichtigt, da sie durch die zu starken Verunreinigungen nicht repräsentativ sind. Die Tabelle zeigt deutlich, dass sich die Zusammensetzung der aktiven Fraktionen zum Teil sehr unterschiedlich ist und nur Heptacosan und Nonacosan in allen aktiven Fraktionen enthalten sind. Die Alkane wurden früher schon getestet, waren aber nicht aktiv.

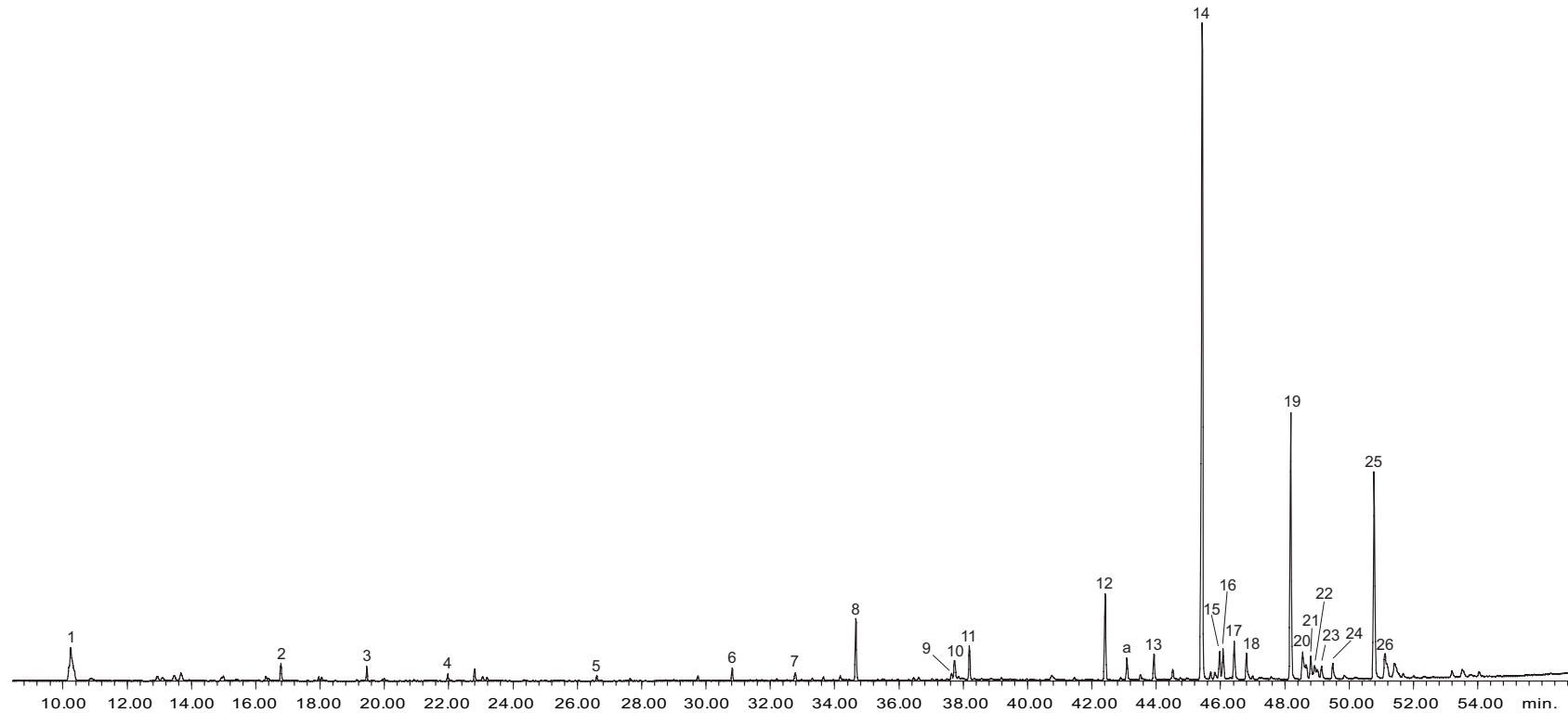


Abbildung 3.11: Totalionenchromatogramm der aktiven Fraktion COC30d/II (MSTFA-Derivat)

1) Milchsäure-TMS-ester, 2) Glycerol-TMS-ether, 3) Nonansäure-TMS-ester, 4) Decansäure-TMS-ester, 5) Dodecansäure-TMS-ester, 6) Tetradecansäure-TMS-ester, 7) Pentadecansäure-TMS-ester, 8) Hexadecansäure-TMS-ester, 9) Linolsäure-TMS-ester, 10) Ölsäure-TMS-ester, 11) Octadecansäure-TMS-ester, 12) Pentacosan, 13) Hexacosan, 14) Heptacosan, 15) Tetracosanol-TMS-ether, 16) 5-Methylheptacosan, 17) 3-Methylheptacosan, 18) Octacosan, 19) Nonacosan, 20) 9-, 13-, 15-, 17-Methylnonacosan, 21) 5-Methylnonacosan, 22) 9,13-Dimethylnonacosan, 23) 3-Methylnonacosan, 24) Triacontan, 25) Hentriacontan, 26) Dimethylhentriacontan, a) Artefakt

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

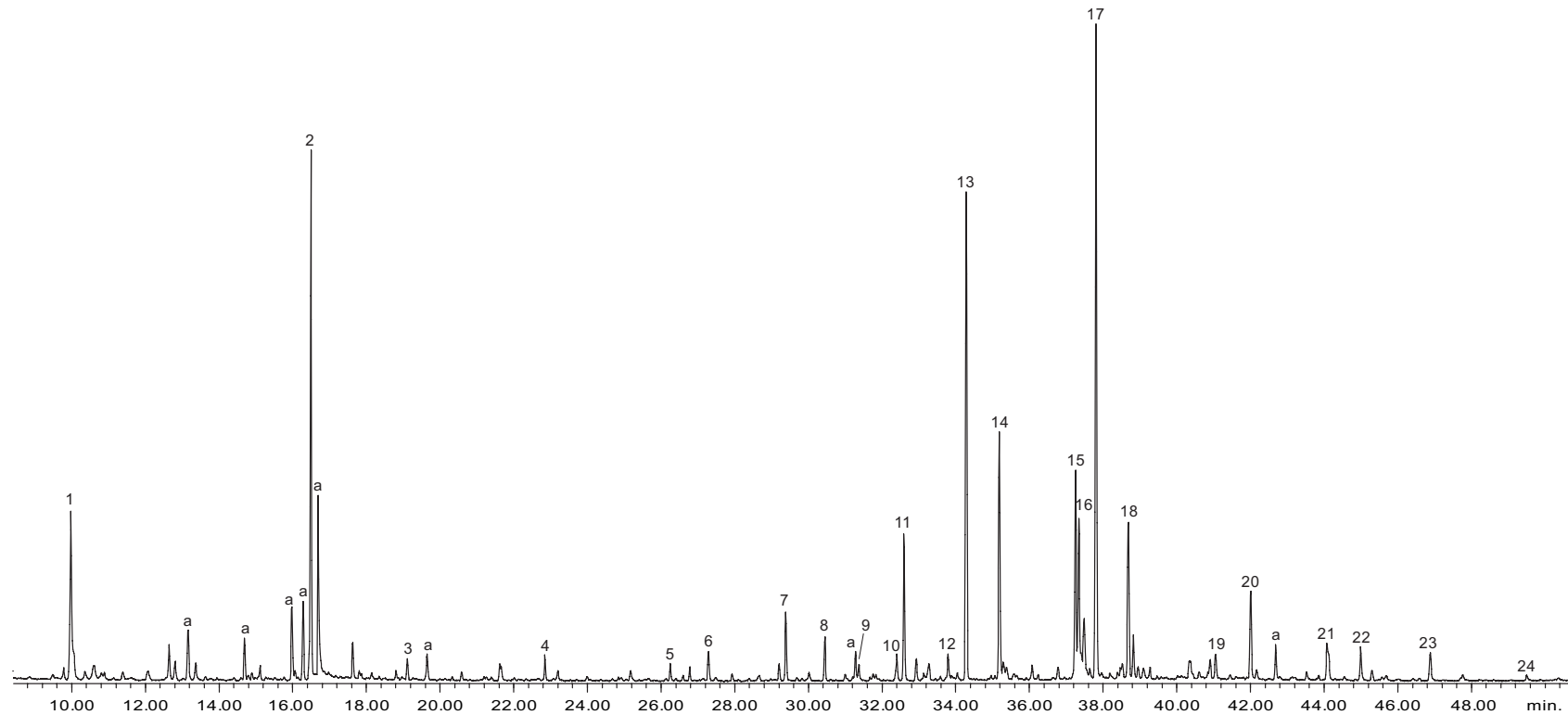


Abbildung 3.12: Totalionenchromatogramm der aktiven Fraktion COC30d/III (MSTFA-Derivat)

1) Milchsäure-TMS-ester, 2) Phosphorsäure-TMS-ester, 3) Nonansäure-TMS-ester, 4) Adipinsäure-TMS-ester, 5) Dodecansäure-TMS-ester, 6) Octandisäure-TMS-ester, 7) Nonandisäure-TMS-ester, 8) Tetradecansäure-TMS-ester, 9) Decandisäure-TMS-ester, 10) Pentadecansäure-TMS-ester, 11) Hexadecanol-TMS-ether, 12) Hexadecensäure-TMS-ester, 13) Hexadecansäure-TMS-ester, 14) Hexadecyliodid (Artefakt), 15) Linolsäure-TMS-ester, 16) Ölsäure-TMS-ester, 17) Octadecansäure-TMS-ester, 18) Octadecadiensäure-TMS-ester, 19) Eicosansäure-TMS-ester, 20) 11-Eicosensäure-TMS-ester, 21) Docosansäure-TMS-ester, 22) Heptacosan, 23) Tetracosansäure-TMS-ester, 24) Hexacosansäure-TMS-ester, a) Artefakt, Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

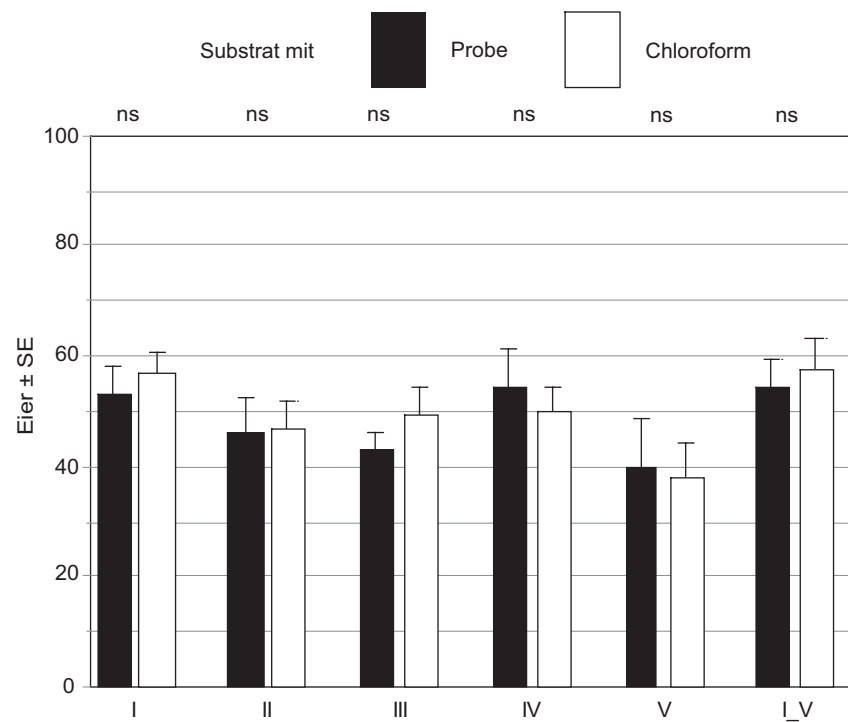


Abbildung 3.13: Anzahl der von *C. oculata* auf das Substrat gelegten Eier. Das Substrat wurde mit Chloroform oder den Fraktionen I–V und der vereinten Fraktion I\_V der Probe COC-30e behandelt.

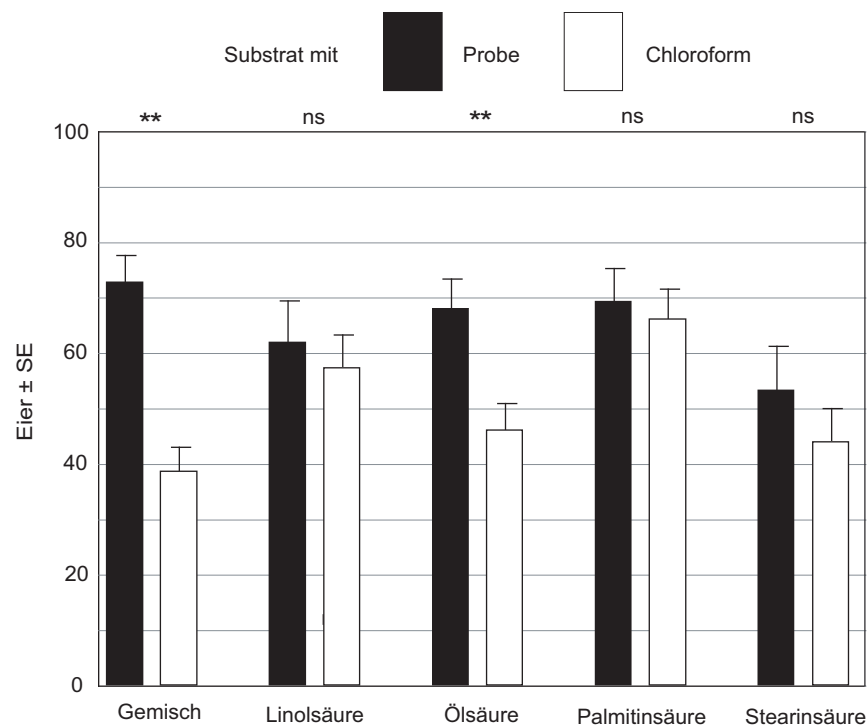


Abbildung 3.14: Anzahl der von *C. oculata* auf das Substrat gelegten Eier. Das Substrat wurde mit verschiedenen Fettsäuren bzw. einem Fettsäuregemisch behandelt.

Tabelle 3.1: Inhaltsstoffe in den aktiven Fraktionen von *C. oculata* xxx: Hauptkomponente, xx: Nebenkomponte, x: Spurenkomponente

	<i>Fraktion</i> COC-24b	<i>Fraktion</i> COC-24c	<i>Fraktion</i> COC-30d/II	<i>Fraktion</i> COC-30d/III
Milchsäure			xx	xx
2-Ethylhexansäure				x
Phosphorsäure				xxx
Nonansäure			x	x
Octandisäure				x
Nonandisäure				xx
Tetradecansäure			x	xx
Pentadecansäure			x	x
Hexadecanol				xx
Hexadecensäure				x
Hexadecansäure				xxx
Linolsäure			x	xx
Ölsäure			x	xx
Octadecansäure			xx	xxx
Tricosan			xx	
Pentacosan	xx	xx	xx	
Eicosansäure				x
Eicosensäure				xx
Docosansäure				xx
Hexacosan			xx	
Heptacosan	xxx	xxx	xxx	xx
13-Methylheptacosan	xx	xx		
5-Methylheptacosan	xx	xx	xx	
3-Methylheptacosan	xx	xx	xx	
Octacosan			x	
Squalen	xxx	xxx		
Nonacosan	xx	xx	xx	x
9-, 13-, 15-, 17-Nonacosan*	xxx	xxx	xx	
5-Methylnonacosan	xx	xx	xx	
9,13-Dimethylnonacosan	xx	xx	x	
Hexacosensäure				x
3-Methylnonacosan	x	x	x	
Triacontan	x	x	x	

Tabelle 3.1: (Fortsetzung)

3-Methyltriacontan	xx	x	
Hentriacontan	xx	xx	xx
9-, 13-, 15-, 17-Methyl- hentriacontan*	xxx	xxx	
5,??-Dimethylhentriacontan	xx	xx	xx
3-Methylhentriacontan	x	x	
Dotriacontan	x		
2-Methyldotriacontan (?)	x		
3-Methyldotriacontan	x		
Tritriacontan	x		
11-, 13-Methyltritriacontan*	xx	xx	
Dimethyltritriacontan	xx	x	
5-Methyltetratriacontan	xx		
5-Methylhexatriacontan (?)	x		

\*eluierten zusammen

### 3.3 *Chrysopa perla*

#### 3.3.1 Allgemeines



Abbildung 3.15: Larve von *Chrysopa perla*<sup>[21]</sup>

Das grüne Perlenauge *Chrysopa perla* (Abb. 3.15) kommt in Europa und den gemäßigten Zonen Asiens vor. Die Körperlänge beträgt ca. 10 mm und die Spannweite erstreckt sich zwischen 25–30 mm. Die Nahrungsquelle sind Blattläuse. Im Gegensatz zu *C. oculata* überwintern bei *C. perla* die erwachsenen Tiere [22].

#### 3.3.2 Proben

Für die von Dr. Ružička hergestellten Extrakte von *C. perla* wurden 5000 Larven des ersten Stadiums mit 20 ml Chloroform extrahiert. Diese Extrakte wurden nach dem Erhalt eingengt und gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht. In Abb. 3.16 ist das Totalionenchromatogramm eines Chloroformextraktes dargestellt.

Die Extrakte bestehen ausschließlich aus Alkanen. Wie schon bei *C. oculata* (s. 3.2.2) bilden die unverzweigten Alkane Heptacosan, Nonacosan und Hentriacontan mit einem Gesamtanteil von 63 % die Hauptkomponenten. Daneben treten auch mono- und dimethylverzweigte Alkane auf. Die Verzweigung befindet sich bei den monomethylverzweigten Alkanen überwiegend in der 3-, 5- oder 7-Position. Bei Heptacosan tritt Methylverzweigung auch in der 9- und 13-Position auf. Bei den dimethylverzweigten Alkanen tritt die Verzweigung in der 11,15-Position auf. Bei den höheren Dimethylalkanen konnten auf Grund des schlechten Signal/Rausch-Verhältnisses die Position der Methylgruppen nicht zweifelsfrei bestimmt werden. Ein Teil der Probe wurde mit MSTFA derivatisiert um auf die Anwesenheit von polaren Verbindungen zu prüfen. Allerdings konnten in der derivatisierten Probe keine weiteren Verbindungen nachgewiesen werden.

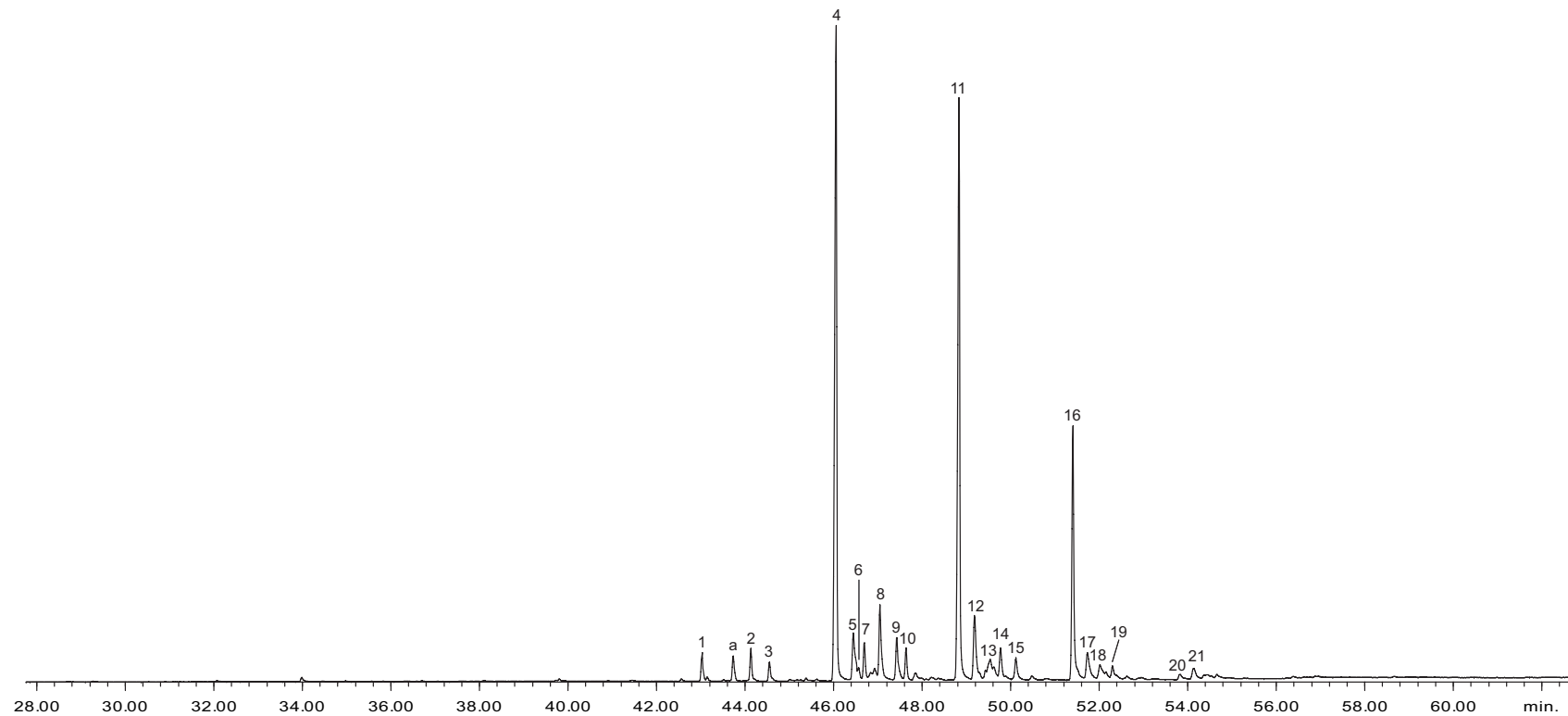


Abbildung 3.16: Totalionenchromatogramm eines Chloroformextrakts von Larven von *Chrysopa perla*.

1) Pentacosan, 2) 3-Methylpentacosan, 3) Hexacosan, 4) Heptacosan, 5) 9-, 13-Methylheptacosan, 6) 7-Methylheptacosan, 7) 5-Methylheptacosan, 8) 3-Methylheptacosan, 9) Octacosan, 10) Squalen, 11) Nonacosan, 12) 11-, 13-Methylnonacosan, 13) 5-Methylnonacosan, 14) 3-Methylhentriacontan, 15) Triacontan, 16) Hentriacontan, 17) 11-, 13-Methylhentriacontan, 18) Dimethyltriacontan, 19) 3-Methylhentriacontan, 20) Tritriacontan, 21) Dimethyldotriacontan

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C



## 3.4 *Cheilomenes sexmaculata*

### 3.4.1 Allgemeines



Abbildung 3.17: Larve von *Cheilomenes sexmaculata*<sup>[23]</sup>

Der aphidophage Marienkäfer *Cheilomenes sexmaculata* (Abb. 3.17) ist ein verbreiteter Räuber in orientalischen und paläarktischen Regionen [24]. Auf dem indischen Subkontinent ernährt er sich hauptsächlich von der Blattlaus *Aphis craccivora* und zeichnet sich durch eine schnelle Entwicklungs- und Fortpflanzungsrate aus [25].

### 3.4.2 Proben

Die Proben von *C. sexmaculata* wurden von Dr. Růžicka hergestellt. Es wurden 5000 Larven des ersten Stadiums mit 20 ml Chloroform extrahiert. Für die Probe CSE-5 wurde Hexan als Extraktionsmittel verwendet. Nach Erhalt wurden die Proben eingengt und mit GC-MS untersucht. In Abb. 3.18 ist das Totalionenchromatogramm eines Chloroformextraktes von *C. sexmaculata* dargestellt.

Die Hauptkomponenten in diesen Extrakten sind Precoccinellin (**7**) und Hippocasin (**8**) (Abb. 3.19), die mehr als 95 % der Naturprobe ausmachen. Die Identifizierung dieser Verbindungen erfolgte durch Vergleich mit Spektren in der NIST Datenbank. Allerdings handelt es sich bei diesen Verbindungen nur um Artefakte, die wahrscheinlich durch den Zerfall von Coccinellin (**9**) im GC entstehen. Um das zu überprüfen wurde eine vorhandene Probe von Coccinellin gaschromatographisch untersucht. In Abb. 3.20 sind die Gaschromatogramme von Coccinellin (schwarz) und der Naturprobe (rot) dargestellt. Es zeigt sich, dass Coccinellin im Gaschromatographen zerfällt. Die gute Übereinstimmung der beiden Gaschromatogramme lässt darauf schließen, dass die Hauptkomponente in den Extrakten von *C. sexmaculata* Coccinellin ist. Da die Chloroformextrakte nahezu komplett aus Coccinellin (**9**) bestehen, stand auf diese Weise genügend Material für <sup>1</sup>H-NMR Untersuchungen zur Verfügung. Ein Vergleich des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums der Naturprobe mit Literaturwerten zeigte eine gute Über-

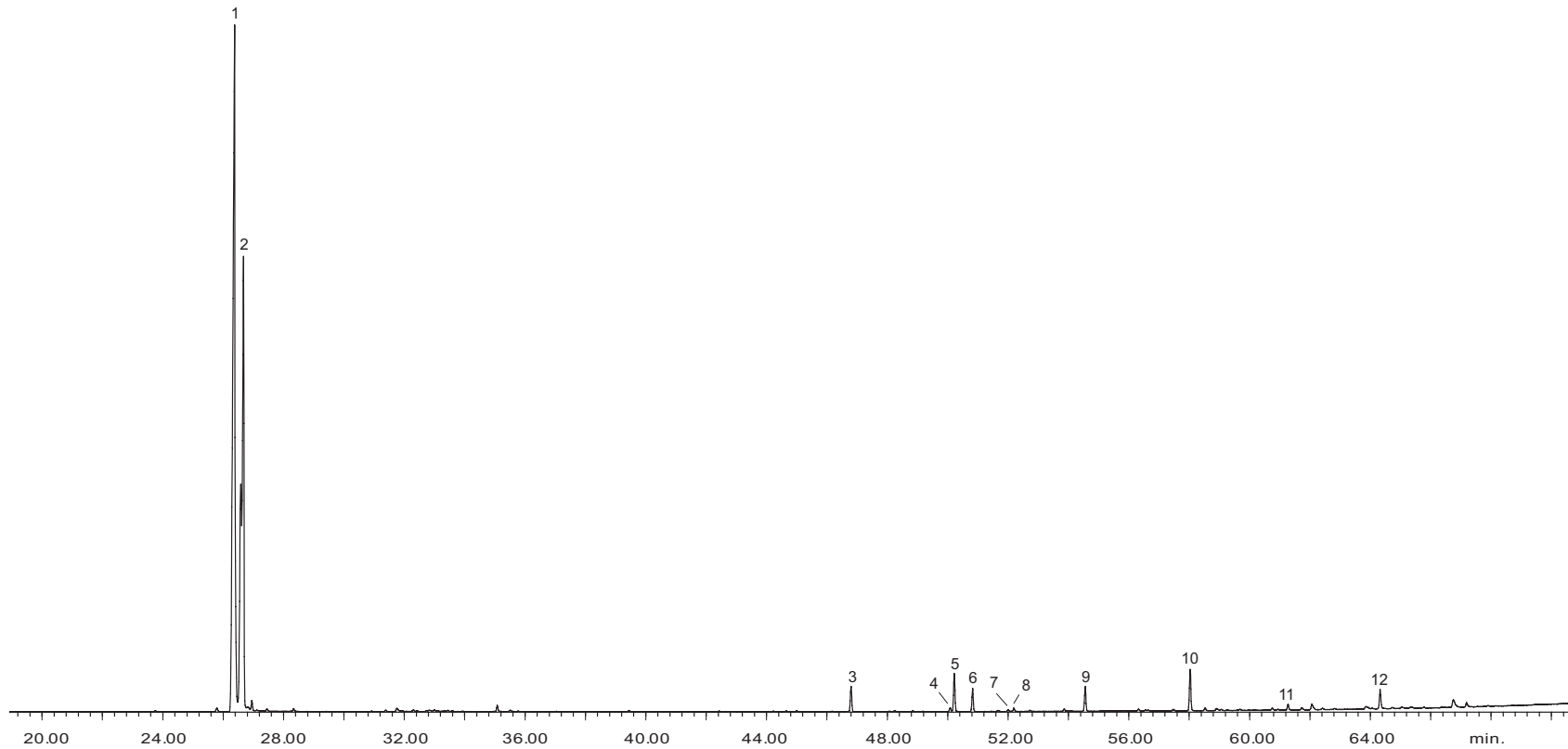


Abbildung 3.18: Totalionenchromatogramm eines Chloroformextrakts von Larven von *Cheilomenes sexmaculata*.

1) Precocinellin, 2) Hippocasin, 3) Tricosan, 4) 2-Methyltetracosan, 5) (*Z*)-12-Pentacosen, 6) Pentacosan, 7) 2-Methylpentacosan, 8) 3-Methylpentacosan, 9) Heptacosan, 10) Nonacosan, 11) Hentriacontan, 12) Tritriacontan

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 4 °C/min auf 320 °C

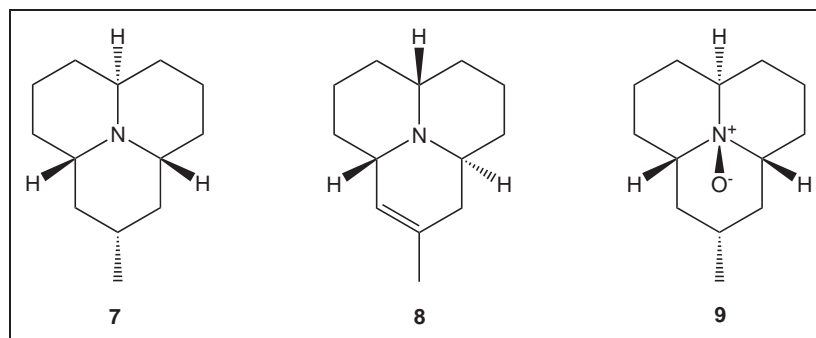


Abbildung 3.19: Precoccinellin (**7**) und Hippocasin (**8**), die durch den Zerfall von Coccinellin (**9**) entstehen

einstimmung und bestätigte das Ergebnis der gaschromatographischen Untersuchung [26]. Durch den Zerfall des Coccinellins im GC kann keine sichere Aussage über die Anwesenheit von Precoccinellin und Hippocasin in der Naturprobe getroffen werden. Eventuell vorhandenes Precoccinellin oder Hippocasin würde immer durch die Zerfallsprodukte des Coccinellins überdeckt werden. Im NMR waren keine anderen Alkaloide nachweisbar. Das kann aber auch bedeuten, dass die Konzentration von eventuell parallel vorliegenden Alkaloiden im Vergleich zum Coccinellin zu gering ist, um NMR-spektroskopisch nachweisbar zu sein. Coccinellin ist u.a. auch das Hauptalkaloid in dem Marienkäfer *Coccinella septempunctata* [27]. Neben dem Coccinellin sind in den

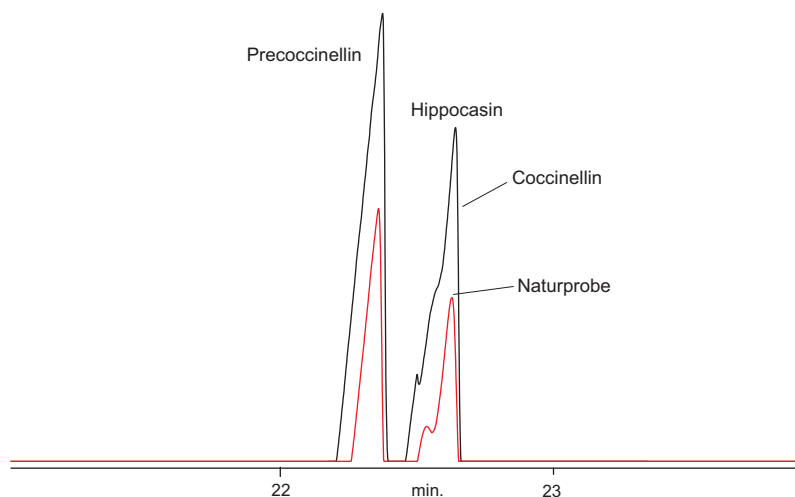


Abbildung 3.20: Gaschromatogramm von Coccinellin (schwarz) im Vergleich zur Naturprobe (rot). Durch Zerfall entstehen Precoccinellin und Hippocasin (BPX-5 fused silica Kapillare, 60 °C 5 min. isotherm, 10 °C/min auf 320 °C).

Chloroformextrakten Kohlenwasserstoffe nachweisbar. Dabei handelt es sich haupt-

sächlich um unverzweigte Alkane ab einer Kettenlänge von C23, von denen Nonacosan die Hauptkomponente ist. Eine weitere Hauptkomponente ist das 12-Pentacosen. Die Position der Doppelbindung wurde durch Bildung der DMDS-Derivate und GC-MS Analyse bestimmt (s. Abb. 3.21) [28]. Durch die Bildung von starken  $\alpha$ -Spaltungs-Ionen bei  $m/z = 215$  ( $C_{12}H_{24}SCH_3^+$ ) und  $m/z = 229$  ( $C_{13}H_{26}SCH_3^+$ ) hat sich gezeigt, dass die Doppelbindung an C-12 lokalisiert ist. Ein Teil der Proben wurde mit MSTFA derivatisiert, aber es wurden keine zusätzlichen polaren Verbindungen gefunden.

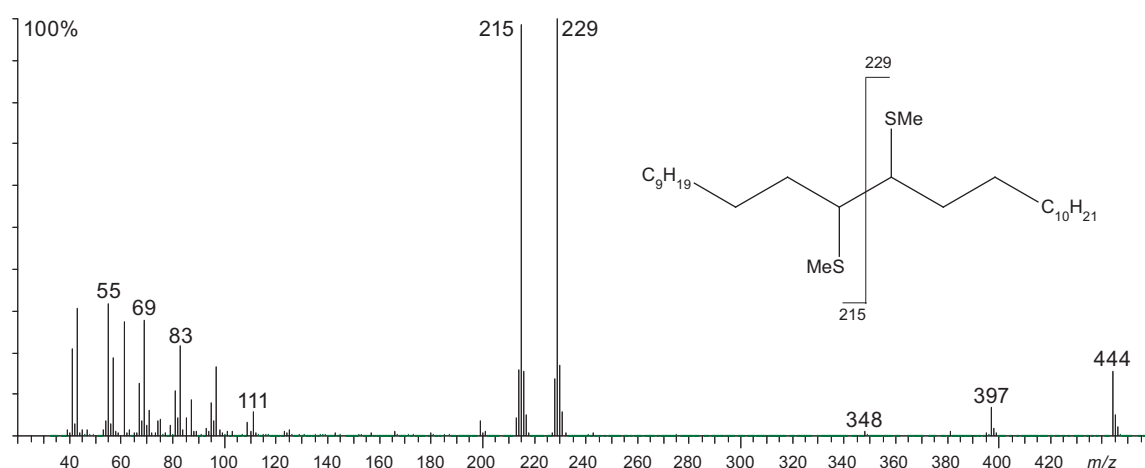


Abbildung 3.21: Massenspektrum des DMDS-Derivats von 12-Pentacosen

### 3.4.3 Chromatographie

Analog zu der chromatographischen Trennung der Proben von *C. oculata* (s. 3.2.3) wurden die Extrakte von *C. sexmaculata* fraktioniert. Die Trennung erfolgte an Sephadex LH-20 mit Methanol/Dichlormethan 1:1 als Laufmittel. Es wurden zwischen 20–35 Fraktionen hergestellt und Fraktionen mit gleichem Inhalt wurden zusammengefasst.

### 3.4.4 Ergebnisse

Im folgenden sind die Ergebnisse der Biotests der fraktionierten Extrakte von *C. sexmaculata* dargestellt. Die Biotests wurden von Dr. Ružička wie in [14] beschrieben durchgeführt. Die Zusammensetzung der getesteten Fraktionen wurde in underivatisierter Form und als MSTFA-Derivat mit GC-MS untersucht.

### CSE-1 (Chloroformextrakt von 1500 Larven des 1. Stadiums)

Von der Probe CSE-1 war nur die Fraktion CSE1b nennenswert bioaktiv bei *C. sexmaculata* (s. Abb. 3.22). Diese Fraktion besteht zum größten Teil aus dem Alkaloid Coccinellin bzw. dessen Zerfallsprodukte (88 %). Daneben sind in dieser Fraktion noch kleine Mengen der ungeradzahigen unverzweigten Alkane von C23-C33 nachweisbar. Nonacosan ist die Substanz mit dem zweitgrößten Anteil (3 %). Mit einem Anteil von 1 % ist 12-Pentacosen in dieser Fraktion enthalten. Die Fraktion CSE1b wurde zusätzlich mit ESI-MS in positiver und negativer Ionisation gemessen. Es konnten keine weiteren Verbindungen nachgewiesen werden.

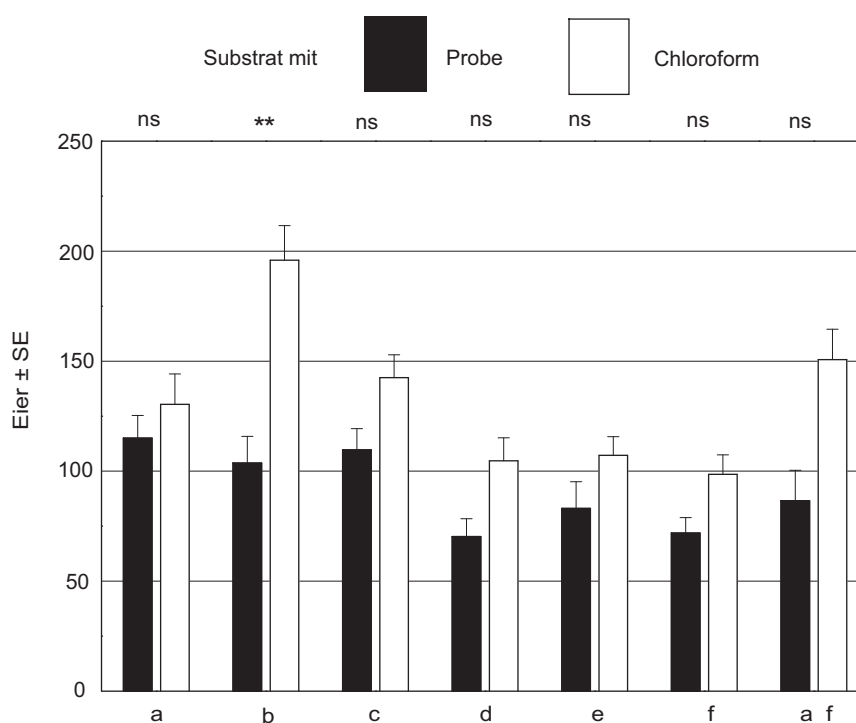


Abbildung 3.22: Anzahl der von *C. sexmaculata* auf das Substrat gelegten Eier. Das Substrat wurde mit Chloroform oder den Fraktion a–f und der vereinten Fraktion a\_f behandelt.

### CSE-2 (Chloroformextrakt von 1500 Larven des 1. Stadiums)

Die Ergebnisse der Biotests der Fraktionen der Probe CSE-2 sind in Abb. 3.23 dargestellt. Nur bei der Fraktion CSE2c gibt es einen signifikanten Unterschied in der Anzahl der Eier zwischen behandeltem Substrat und der Kontrollprobe. Diese Fraktion besteht ähnlich der Fraktion CSE1b (s. 3.4.4) zum größten Teil aus Coccinellin

(92 %). Zusätzlich dazu sind die Alkane Tricosan, Pentacosan, Heptacosan, Nonacosan und Tritriacontan enthalten. Nonacosan hat neben den Alkaloiden den zweithöchsten Anteil (1,5 %). Eine weitere wichtige Komponente bildet das 12-Pentacosen. In dieser Testreihe wurde zusätzlich auch reines Coccinellin getestet (Spalte C in Abb. 3.23). Ein Einfluss des Coccinellins auf die Eiablage von *C. sexmaculata* konnte nicht festgestellt werden.

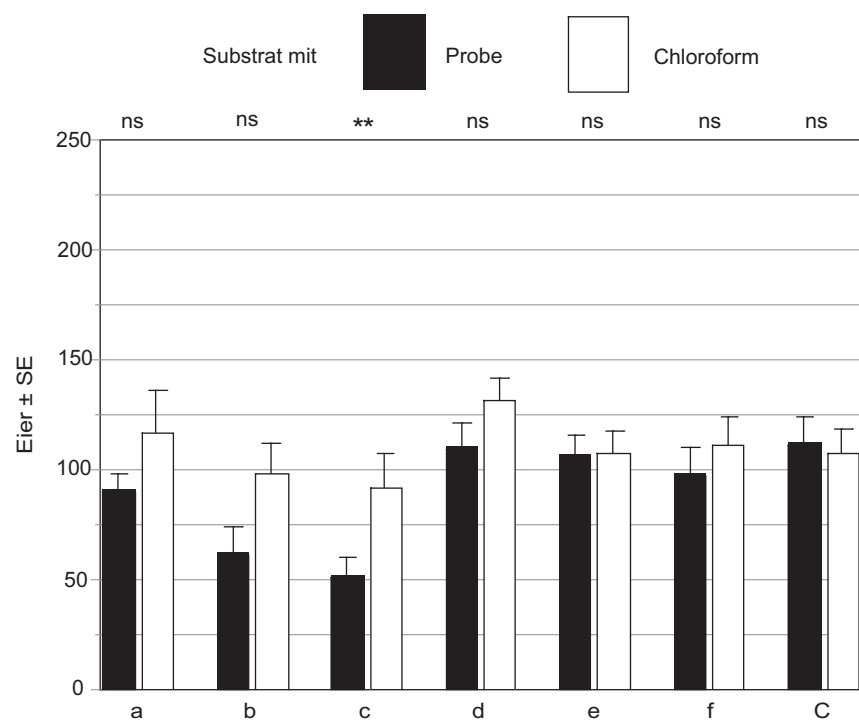


Abbildung 3.23: Anzahl der von *C. sexmaculata* auf das Substrat gelegten Eier. Das Substrat wurde mit Chloroform oder den Fraktionen a–f der Probe CSE-2 bzw. Coccinellin (C) behandelt.

### CSE-5 (Hexanextrakt von 4800 Larven des 1. Stadiums)

Von den Fraktionen die aus der Probe CSE-5 hergestellt wurden, wiesen nur die Fraktionen CSE5b und CSE5c eine Bioaktivität auf, wobei die Aktivität der Fraktion CSE5b stärker ausgeprägt war. Die Ergebnisse der Biotests sind in Abb. 3.24 dargestellt. Die Hauptkomponenten dieser Fraktion sind die Alkaloide mit einem Anteil von 27 %. Daneben bilden die unverzweigten Alkane Pentacosan (18 %), Heptacosan (11 %), Nonacosan (14 %) und Hentriacontan (6 %) wichtige Verbindungen. Als Nebenkomponten liegen 2-Methyltetracosan, 3-Methylpentacosan, 2-Methylhexacosan, 11,15-

Dimethylhentriacontan und 12-Pentacosen vor. Bemerkenswert ist, dass die Fraktion a-g, die eine Mischung aus den Fraktionen CSE5a-CSE5g ist, und damit alle Komponenten aus dem Extrakt CSE-5 enthalten sollte, eine geringere Bioaktivität besitzt als die Fraktion CSE5b. Die Fraktion CSE5c zeichnet sich gegenüber CSE5b durch eine höhere Anzahl an mono- und dimethylverzweigten Alkanen aus. Die Verzweigungen befinden sich in 2- bzw. 9,13- und 11,15-Position. Die Hauptkomponenten sind Pentacosan (25 %), Heptacosan (10 %) und Nonacosan (10 %). Da für weitere Auftrennung der aktiven Fraktionen von CSE-5 zu wenig Material zur Verfügung stand, wurde von einer weiteren Fraktionierung abgesehen. Stattdessen wurden Verbindungen die in allen bisherigen aktiven Fraktionen nachgewiesen werden konnten auf ihre jeweilige Aktivität untersucht.

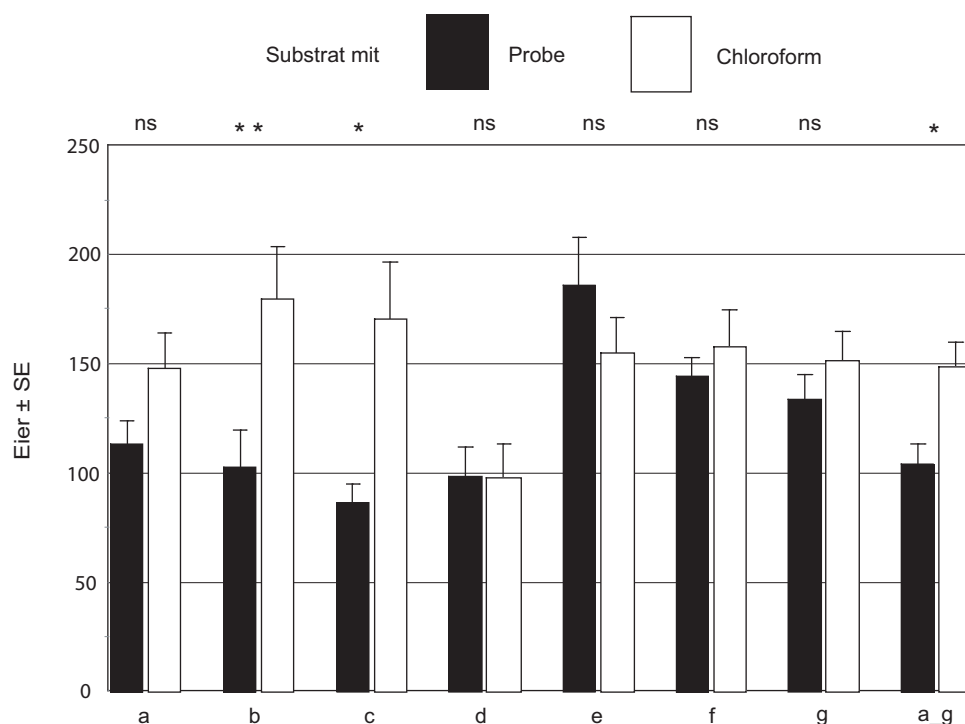


Abbildung 3.24: Anzahl der von *C. sexmaculata* auf das Substrat gelegten Eier. Das Substrat wurde mit Chloroform oder den Fraktionen a–g und der vereinten Fraktion a\_g behandelt.

In der folgenden Tabelle (Tab. 3.2) sind die Substanzen, die in den aktiven Fraktionen bzw. den Spuren von Larven enthalten sind zusammengefasst. In allen aktiven Fraktionen bzw. in den Larvenspuren sind die Alkane Pentacosan, Heptacosan und Nonacosan und das Alken 12-Pentacosen enthalten. Diese Verbindungen wurden in Biotests auf

ihre Wirksamkeit als ODP untersucht.

Tabelle 3.2: Inhaltsstoffe in den aktiven Fraktionen von *C. sexmaculata*  
xxx=Hauptkomponente, xx=Nebenkompente, x=Spurenkomponente

	<i>Fraktion</i> CSE-1b	<i>Fraktion</i> CSE-2c	<i>Spur</i> CSE-4	<i>Fraktion</i> CSE-5b	<i>Fraktion</i> CSE-5c
Precoccinellin	xxx	xxx	x		xx
Hippocasin	xxx	xxx	x		xx
3-Hexadecanol(?)			x		
Hexadecanol			x		
Monocaprin			x		
3-Octadecanol(?)			x		
Octadecanol			x		
Tricosan		x	xx		xx
Tetracosan					x
2-Methyltetracosan			xx	xx	xx
12-Pentacosen	x	xx	xx	xx	xx
Pentacosan	x	xx	xxx	xxx	xxx
2-Methylpentacosan			x		xx
3-Methylpentacosan			xx	xx	xx
Hexacosan			x	x	x
2-Methylhexacosan			xx	xx	xx
7-Heptacosen*			x	xx	x
Heptacosan	xx	xx	xxx	xxx	xxx
Dimer der Alkaloide				xx	x
Squalen			xx		
3-Methylheptacosan					x
Octacosan		x		x	x
Nonacosan	xx	xx	xx	xxx	xxx
11-Methylnonacosan					xx
9,13-Dimethylnonacosan					x
Hentriacontan				xx	xx
11-Methylhentriacontan			x		xx
11,15-Dimethylhentriacontan			xx	xx	xx
11,15-Dimethyltritriacontan(?)					x
Tritriacontan	x	x			
Dimethylpentatriacontan(?)					x
Pentatriaconten(?)			xx		



Tabelle 3.2: (Fortsetzung)

Octadecansäure- docosylester	x
---------------------------------	---

\* nur in einer Probe

### Biotests mit Alkanen

Da in den aktiven Fraktionen von *C. sexmaculata* stets die Alkane Pentacosan, Heptacosan und Nonacosan einen großen Anteil hatten, wurde der Effekt untersucht, den diese Alkane auf die Eiablage von *C. sexmaculata* ausüben. Die Alkane wurden einzeln und als Mischung getestet. Die Zusammensetzung der Mischungen wurde so gewählt, dass die relativen Anteile der einzelnen Alkane den relativen Anteilen dieser Alkane in den Naturproben entspricht. Die Verhältnisse der Alkane in der Fraktion CSEd entsprechen dabei den Verhältnissen dieser Alkane in der Probe CSE4. Diese Probe ist ein Extrakt von den Spuren von 100 Larven des ersten Stadiums. Die Fraktion CSEe ist analog den Alkanverhältnissen in der Probe CSE-1 zusammengesetzt. In Abb. 3.25 sind die Ergebnisse dieser Biotest dargestellt. Es hat sich gezeigt, dass bei keiner dieser Alkanfraktionen eine Bioaktivität feststellbar war.

### Biotest mit 12-Pentacosen

Neben den Alkanen war 12-Pentacosen (**10**) in den aktiven Fraktionen der vorherigen Biotests eine wichtige Verbindung. Daher wurde der Effekt untersucht, den 12-Pentacosen auf die Eiablage von *C. sexmaculata* ausübt. 12-Pentacosen wurde nach einer modifizierten Vorschrift von Matsuda synthetisiert (Abb. 3.26) [29]. Tridecin (**11**) wurde nach Brandsma mit einem Gemisch aus Kalium-*tert*-butanolat und n-Butyllithium in Pentan/THF deprotoniert und mit Dodecyltriflat (**12**) umgesetzt [30]. Als Co-Solvens diente TMEDA. Nicht reagiertes Tridecin konnte durch Waschen mit Silbernitratlösung als Silberacetylid entfernt werden. Anschließend wurde das erhaltene Pentacosin (**13**) mit Lindlar-Katalysator und Wasserstoff zu (*Z*)-12-Pentacosen (**10**) hydriert. Das (*E*)-Isomer hatte einen Anteil von 2 %. Für die Biotests wurden Lösungen des synthetisierten 12-Pentacosens in den Konzentrationen 1 mg/ml, 0,1 mg/ml und 0,01 mg/ml verwendet. Die Ergebnisse dieser Tests sind in Abb. 3.27 dargestellt. Die

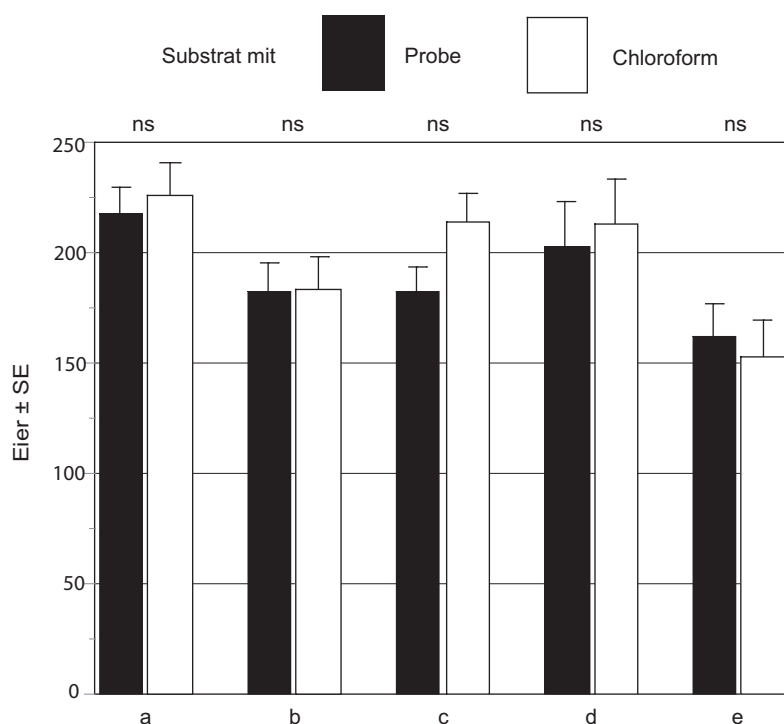


Abbildung 3.25: Anzahl der von *C. sexmaculata* auf das Substrat gelegten Eier. Das Substrat wurde mit den Alkanen Pentacosan, Heptacosan, Nonacosan bzw. mit Mischungen davon behandelt.

a) Pentacosan (1 mg/ml), b) Heptacosan (1 mg/ml), c) Nonacosan (1 mg/ml), d) Pentacosan (0,34 mg), Heptacosan (0,41 mg), Nonacosan (0,22 mg) in 1 ml Dichlormethan, e) Pentacosan (0,28 mg), Heptacosan (0,28 mg), Nonacosan (0,45 mg) in 1 ml Dichlormethan

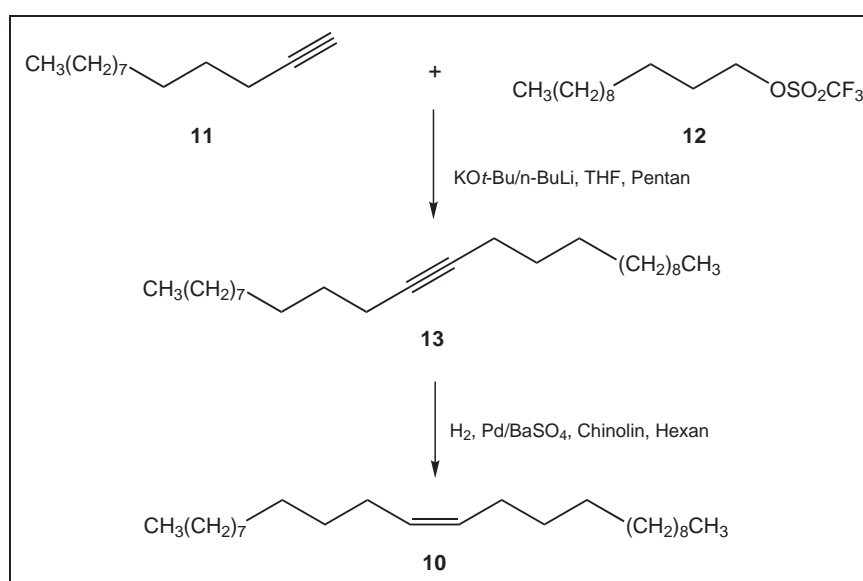


Abbildung 3.26: Synthese von *(Z)*-12-Pentacosen (**10**)

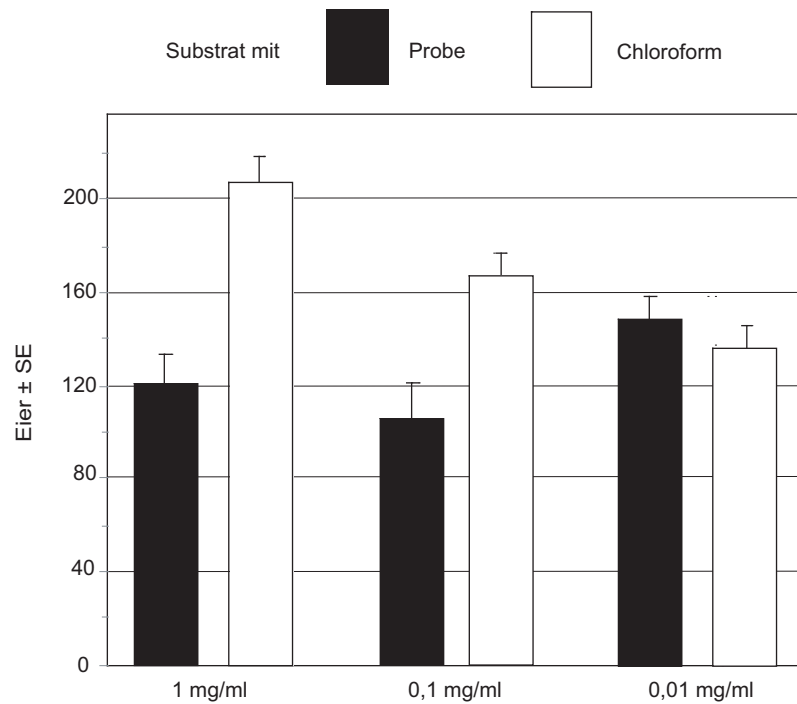


Abbildung 3.27: Anzahl der von *C. sexmaculata* auf ein Substrat gelegten Eier. Das Substrat wurde mit einer (*Z*)-12-Pentacosenlösung der Konzentration 1, 0,1 und 0,01 mg/ml behandelt.

Biotests haben gezeigt, dass 12-Pentacosen die Eiablage von *C. sexmaculata* hemmt. Dieser Effekt ist abhängig von der Konzentration. Erwartungsgemäß ist der Effekt bei der Lösung mit der höchsten Konzentration am stärksten ausgeprägt. Mit abnehmender Konzentration an 12-Pentacosen lässt die hemmende Wirkung nach und bei der Lösungen der Konzentration 0,01 mg/ml war kein Effekt mehr feststellbar.

## 3.5 *Ceratomegilla undecimnotata*

### 3.5.1 Allgemeines



Abbildung 3.28: Käfer von *Ceratomegilla undecimnotata*<sup>[31]</sup>

Der Marienkäfer *C. undecimnotata* [= *Hippodamia undecimnotata*] (Abb. 3.28) ist eine multivoltine Art aus Griechenland. In Zentralgriechenland pflanzen sich die Tiere im April im Flachland fort und im Juni erfolgt eine starke Migration der erwachsenen Tiere zu den Gipfeln der nahen Berge. Dort bilden sie Aggregationen und bleiben bis zum Frühjahr des folgenden Jahres [32].

### 3.5.2 Proben

Die Proben von *C. undecimnotata* wurden von Dr. Růžicka hergestellt. Dazu wurden 5000 Individuen des ersten Larvenstadiums mit 20 ml Chloroform extrahiert. Nach Erhalt der Proben wurden diese eingengt und gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht. In Abb. 3.29 ist das Totalionenchromatogramm eines Extraktes (Probe CUN-1) dargestellt. In diesem Extrakt sind hauptsächlich Alkane und Alkene enthalten. Mit einem Anteil von 18 % bildet 9-Pentacosen die Hauptkomponente. Die Position der Doppelbindung wurde durch Derivatisierung mit DMDS und anschließender GC-MS ermittelt. Die Hauptpeaks bei  $m/z = 173$  ( $C_9H_{18}SCH_3^+$ ) und  $m/z = 271$  ( $C_{16}H_{32}SCH_3^+$ ) weisen auf eine 9-Position der Doppelbindung hin. Daneben liegen auch 9-Heptacosen und 9-Nonacosen in diesem Extrakt vor. Die Position der Doppelbindungen wurde ebenfalls über die DMDS-Derivate ermittelt.

Die Alkane treten überwiegend als unverzweigte Kohlenwasserstoffe auf, die Kettenlänge reicht von C22 bis zu C33. Tricosan ist mit einem Anteil von 16 % die Hauptkomponente unter den Alkanen, gefolgt von Heptacosan (13 %) und Nonacosan (11 %). Alle anderen Alkane treten in geringer Menge auf. Als einzige verzweigte Alkane konnten nur 3- und 5-Methylheptacosan nachgewiesen werden. Die Alkaloide Precoccinellin und Hippocasin sind mit einem Anteil von 8 % im Extrakt enthalten. Sie entstehen beim

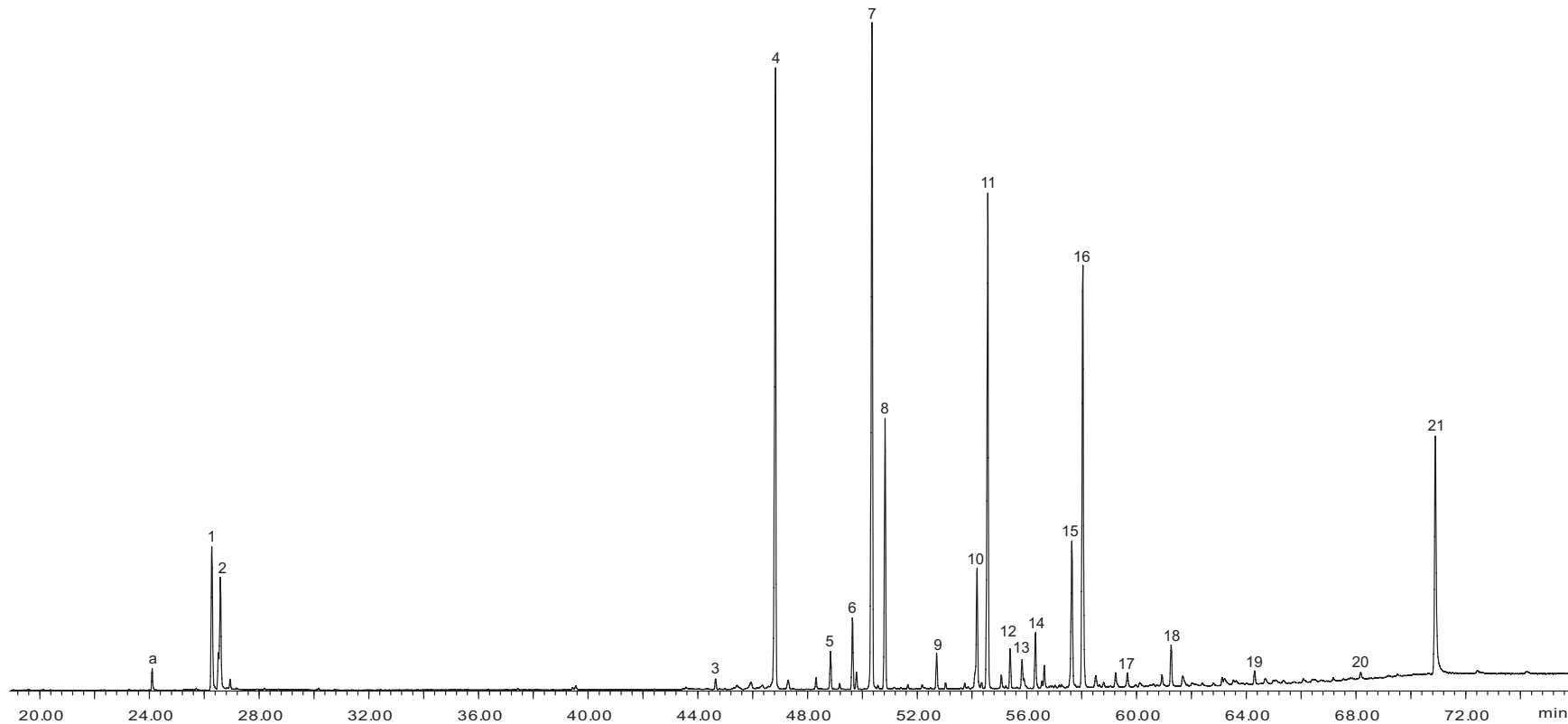


Abbildung 3.29: Totalionenchromatogramm eines Chloroformextrakts von Larven von *Ceratomegilla undecimnotata*.

1) Precoccinellin, 2) Hippocasin, 3) Docosan, 4) Tricosan, 5) Tetracosan, 6) unbekannt, 7) 9-Pentacosen, 8) Pentacosan, 9) Hexacosan, 10) 9-Heptacosen, 11) Heptacosan, 12) 5-Methylheptacosan, 13) 3-Methylheptacosan, 14) Octacosan, 15) 9-Nonacosen, 16) Nonacosan, 17) Triacontan, 18) Hentriacontan, 19) Tritriacontan, 20) Octadecansäurehexadecylester, 21) Octadecansäureoctadecylester

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 4 °C/min auf 320 °C

Zerfall von Coccinellin im Injektor des Gaschromatographen (s. 3.4.2). In dem Extrakt sind weiterhin die Wachsester Octansäurehexadecyl- und Octadecansäureoctadecyles-ter zu finden. In einigen Proben von *C. undecimnotata* konnten in dem mit MSTFA derivatisierten Extrakten Spuren von den (unspezifischen) Fettsäuren Tetradecansäure, Hexadecansäure, Octadecansäure, Linolsäure und Ölsäure nachgewiesen werden.

## 3.6 *Cycloneda limbifer*

### 3.6.1 Allgemeines



Abbildung 3.30: Larve von *Cycloneda limbifer*<sup>[33]</sup>

*Cycloneda limbifer* [= *C. sanguinea limbifer*] (Abb. 3.30) ist ein fleckenloser Marienkäfer mit roten Flügeldecken, der im karibischen Raum, Amerika und Ozeanien beheimatet ist. Er ist ein effizienter Räuber von Blattläusen in Gurken- und Chrysanthemenkulturen in Gewächshäusern [34]. Die Entwicklungszeit vom Ei zum erwachsenen Tier ist temperaturabhängig und beträgt bei 15 °C 60 Tage und bei 25 °C 18 Tage [35].

### 3.6.2 Proben

Die Proben von *C. limbifer* wurden von Dr. Růžicka hergestellt. Zu diesem Zweck wurden 5000 Larven des ersten Stadiums mit 20 ml Chloroform extrahiert. Nach Erhalt dieser Extrakte wurden die Inhaltsstoffe gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht. In Abb. 3.31 ist das Totalionenchromatogramm der Probe CYC-1 dargestellt. Die Hauptkomponenten in den Extrakten von *C. limbifer* sind mit einem Anteil von 65 % die Alkaloide, auf die im Abschnitt 3.4.2 näher eingegangen wurde. Daneben sind ausschließlich methylverzweigte und unverzweigte Alkane und Alkene im Extrakt enthalten. Die Kettenlänge der Alkane umspannt den Bereich von C23 bis zu C31. Pentacosan ist das Alkan mit dem größten Anteil (7 %). Methylverzweigung in der 2- und 3-Position tritt nur bei der Kettenlänge von C23 bis C26 auf, bei Hentriacontan

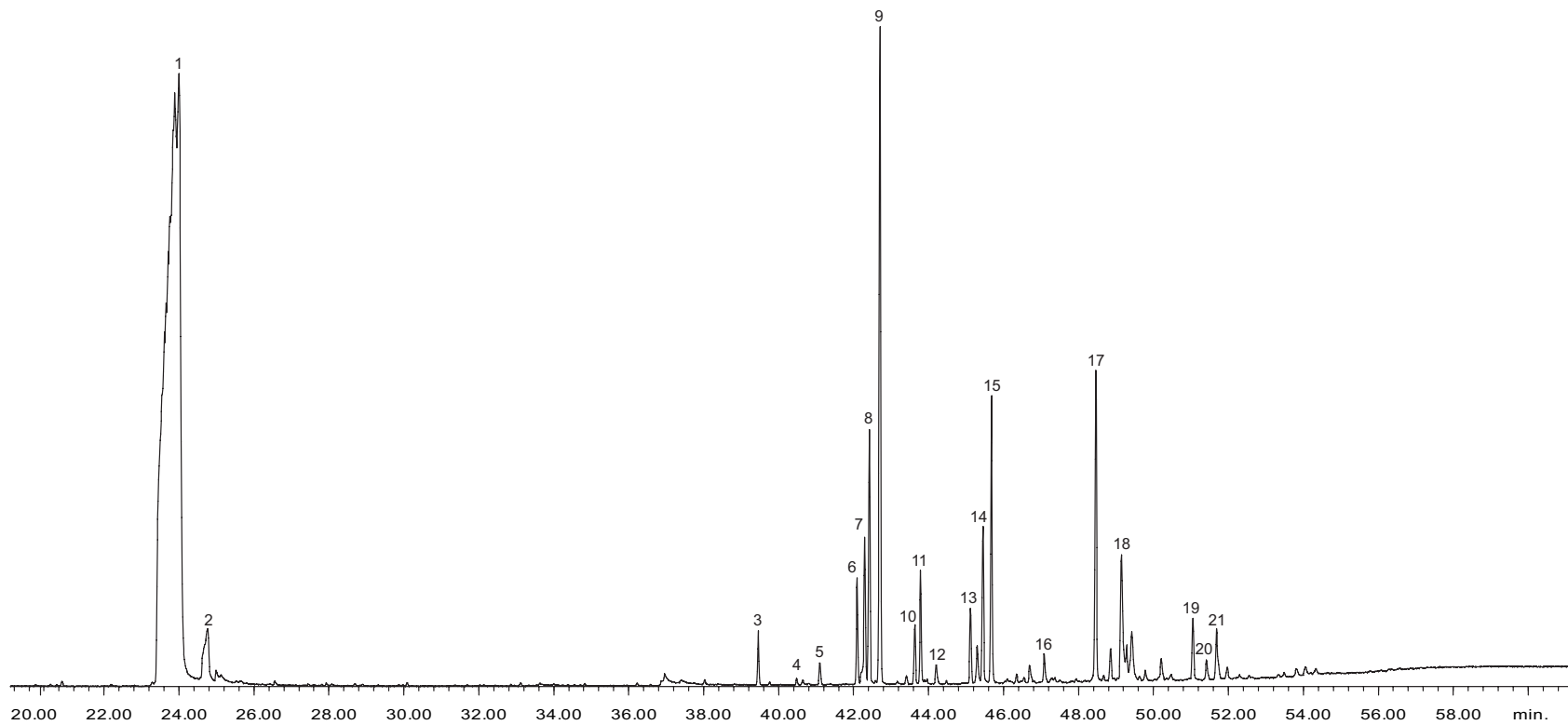


Abbildung 3.31: Totalionenchromatogramm eines Chloroformextrakts von Larven von *Cycloneda limbifer*.

1) Hippocasin, 2) Precoccinellin, 3) Tricosan, 4) 2-Methyltricosan, 5) Tetracosan, 6) 2-Methyltetracosan, 7) 7-Pentacosen, 8) 9-Pentacosen, 9) Pentacosan, 10) 2-Methylpentacosan, 11) 3-Methylpentacosan, 12) Hexacosan, 13) 2-Methylhexacosan, 14) 7-Heptacosen, 15) Heptacosan, 16) Octacosan, 17) Nonacosan, 18) Dimer von 1), 19) Hentriacontan, 20) 11-Methylhentriacontan, 21) 11,15-Dimethylhentriacontan

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

befindet sich die Methylverzweigung in der 11-Position. Zusätzlich dazu gibt es bei dieser Kettenlänge Dimethylverzweigung mit den Methylgruppen in 11,15-Position. Die Alkene 7- und 9-Pentacosen sowie 7-Heptacosen konnten nachgewiesen werden. Die Position der Doppelbindung wurde durch DMDS-Derivatisierung bestimmt. Ein Teil des Extraktes wurde mit MSTFA derivatisiert um auf die Anwesenheit von polaren Verbindungen zu testen. Es konnten allerdings keine polaren Verbindungen nachgewiesen werden.

## 3.7 *Harmonia dimidiata*

### 3.7.1 Allgemeines



Abbildung 3.32: Erwachsenes Exemplar von *Harmonia dimidiata*<sup>[36]</sup>

*Harmonia (Leis) dimidiata* (Abb. 3.32) ist eine aphidophag lebende Marienkäferart in Nordamerika und im südlichen Asien. In Florida wurde diese Art 1925 aus China eingeführt und ist dort in Citrushainen zu finden. Die höchste Populationsdichte wird im Frühling und Frühsommer erreicht [37, 38].

### 3.7.2 Proben

Die Proben von *H. dimidiata* wurden von Dr. Ružička hergestellt. Dazu wurden 2500 Larven des ersten Stadiums mit 20 ml Chloroform extrahiert. Nach Erhalt dieser Extrakte wurden die Inhaltsstoffe gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht. In Abb. 3.33 ist das Totalionenchromatogramm der mit MSTFA derivatisierten Probe HDI-1 dargestellt. Die wichtigsten Stoffklassen in dieser Probe bilden die Fettsäuren, Alkane und Alkene. Es treten ausschließlich unverzweigte Alkane mit einer Kettenlänge von C23 bis zu C29 auf. Mit einem Anteil von 16 % ist Heptacosan die Hauptkomponente dieser Probe. Tricosan und Pentacosan sind wichtige Nebenkompo-



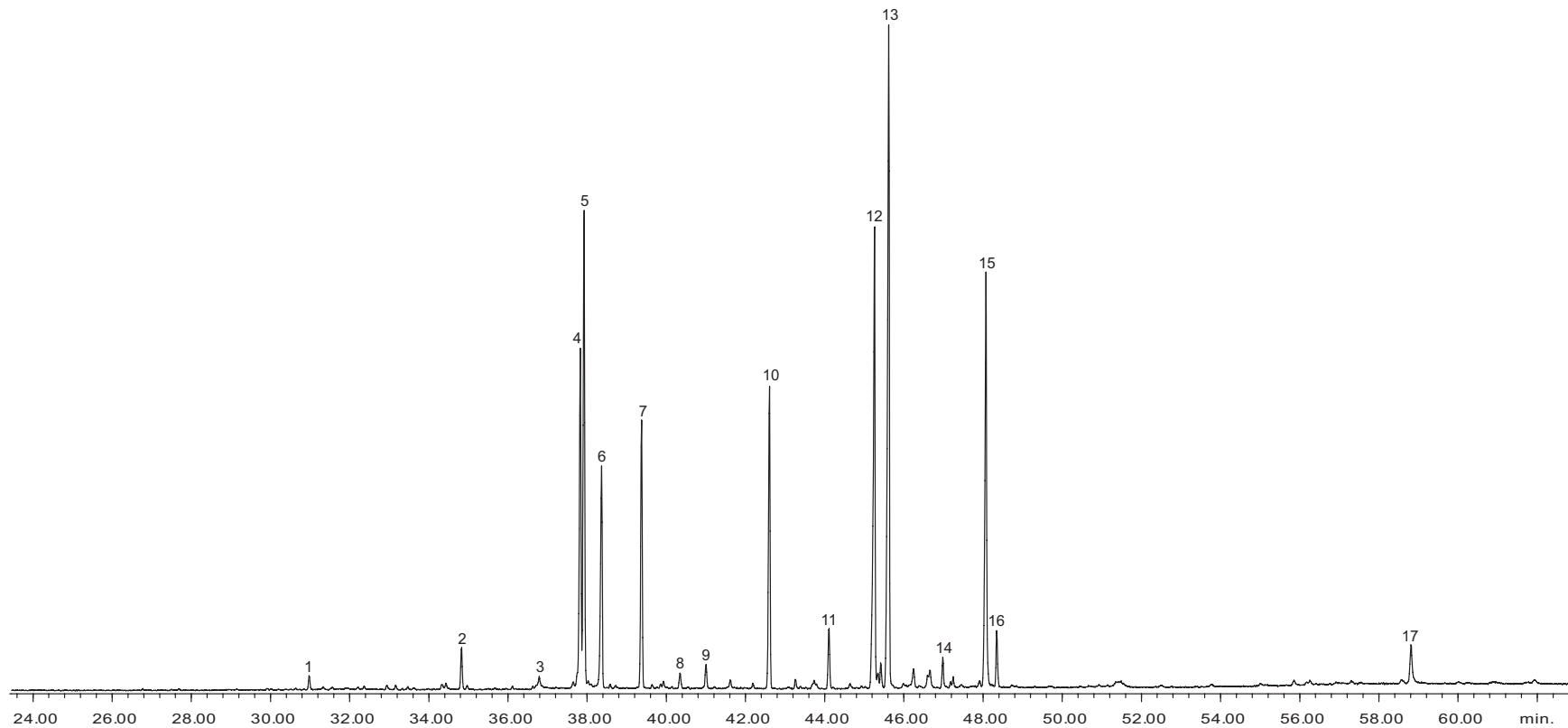


Abbildung 3.33: Totalionenchromatogramm eines Chloroformextrakts von Larven von *Harmonia dimidiata*.

1) Tetradecansäure-TMS-ester, 2) Hexadecansäure-TMS-ester, 3) Octadecanol-TMS-ether, 4) 9,12-Octadecandensäure-TMS-ester, 5) 9-Octadecensäure-TMS-ester, 6) Octadecansäure-TMS-ester, 7) Tricosan, 8) unbekannt, 9) Tetracosan, 10) Pentacosan, 11) Hexacosan, 12) 9-Heptacosen, 13) Heptacosan, 14) Octacosan, 15) 9-Nonacosan, 16) Nonacosan, 17) Octadecylstearat

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

nenten während die anderen Alkane nur in geringen Mengen vorkommen.

Einen verhältnismäßig hohen Anteil haben die beiden Alkene 9-Heptacosen (14 %) und 9-Nonacosen (12 %). Die Position der Doppelbindung wurde durch Derivatisierung mit DMDS und anschließender GC-MS Analyse bestimmt. Um das Vorhandensein von polaren Stoffen zu untersuchen wurde ein Teil der Probe mit MSTFA derivatisiert. In dieser derivatisierten Probe konnten gut die Fettsäuren nachgewiesen werden. Die C18-Fettsäuren Octadecansäure, Linolsäure und Ölsäure haben einen großen Anteil, dagegen ist der Anteil der Hexadecansäure gering. In Spuren konnten die Tetradecan- und Hexadecansäure nachgewiesen werden.

### 3.8 Diskussion

Larvenextrakte des 1. Stadiums von *C. oculata* haben einen abstoßenden Effekt auf Weibchen der gleichen Art. Diese Extrakte bestehen hauptsächlich aus verzweigten und unverzweigten Kohlenwasserstoffen, mit Heptacosan als Hauptkomponente. Ebenfalls aktiv erwiesen sich Chloroformextrakte der Spuren, die Larven im ersten Larvenstadium auf Glas hinterlassen [11]. Diese Spuren bestehen ebenfalls hauptsächlich aus methyl- und dimethylverzweigten und unverzweigten Alkanen. Darüber hinaus sind Fettsäuren, vor allem Hexadecansäure enthalten. Für die Untersuchungen als wenig geeignet erwiesen sich Larvenspuren auf Papier. Beim Extrahieren dieser Spuren vom Papier wurden so viele Verunreinigungen aus dem Papier gelöst, dass diese Verunreinigungen einen höheren Anteil im Extrakt hatten als die eigentlichen Substanzen aus den Spuren. Mehrere Tage alte Larvenspuren hemmen die Eiablage im gleichen Maße wie frische Spuren. Daher kann davon ausgegangen werden, dass die für die biologische Aktivität verantwortlichen Verbindungen bei Raumtemperatur über einen längeren Zeitraum stabil und kaum flüchtig sind.

Durch Fraktionieren von aktiven Extrakten und anschließendem Testen der erhaltenen Fraktionen kann die Struktur des ODP näher eingekreist werden. Bei *C. oculata* ging die biologische Aktivität bei der Säulenchromatographie an Kieselgel verloren. Es ist möglich, dass die aktiven Verbindungen zu polar sind um von einer Kieselgelsäule eluiert zu werden. Aus diesem Grund wurde die Fraktionierung an Sephadex LH-20 durchgeführt. Dabei werden die Substanzen nach ihrer Größe getrennt. Auf diese Wei-

se konnte die biologische Aktivität bei der Fraktionierung erhalten werden. Allerdings war die Trennleistung des Sephadex LH-20 nicht optimal. Möglicherweise ist der Größenunterschied der Substanzen für eine effektive Trennung zu gering. Die erhaltenen aktiven Fraktionen waren in ihrer Zusammensetzung sehr ähnlich. Hauptkomponenten sind die Alkane, allem voran das Heptacosan. Fettsäuren sind ebenfalls häufig in den aktiven Fraktionen nachweisbar. Von den nicht aktiven Fraktionen unterschieden sich die aktiven Fraktionen teilweise nur in der quantitativen Zusammensetzung. Möglicherweise ist auch ein Gemisch von Substanzen für die Wirkung als ODP verantwortlich. Die biologische Aktivität hängt in diesem Fall von der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung ab. Eine kleine Veränderungen in der Zusammensetzung dieses Gemisches kann die biologische Aktivität zerstören.

Die Extrakte und aktiven Fraktionen wurden mit Nanospray-ESI-MS in positiver und negativer Ionisierung untersucht, um zu testen, ob diese Verbindungen enthalten, die nicht mittels GC-MS nachgewiesen werden können. Diese Untersuchungen verliefen negativ.

Die Fraktionierung der Probe COC-30 lieferte 7 Fraktionen von denen die beiden aktiven Fraktionen COC30d und COC30e ebenfalls fraktioniert wurden. Bei zwei Fraktionen, die aus COC30d erhalten wurden, konnte eine Aktivität nachgewiesen werden. In diesen beiden Fraktionen, die sich in ihrer Zusammensetzung teilweise unterschieden, waren Fettsäuren wichtige Verbindungen. Diese Fettsäuren (Palmitinsäure, Stearinsäure, Ölsäure, Linolensäure) wurden daher einzeln und als Mischung auf ihre Wirkung als ODP getestet. Die Zusammensetzung der Mischung entsprach dabei den Verhältnissen der Säuren in den Naturproben. In den Biotests erwiesen sich die Säuren und die Mischung allerdings als stimulierend auf die Eiablage von *Chrysopa oculata*. Besonders das Gemisch und die Ölsäure waren aktiv.

Parr et al. haben den Einfluss von Fettsäuren auf die Eiablage des Samenkäfers *Callosobruchus maculatus* untersucht [39]. Dabei wurde festgestellt, dass Ölsäure abhängig von der Konzentration und dem Gemisch, in dem sie sich befindet, unterschiedliche Effekte bewirken kann. Zum einen wirkt sie hemmend auf die Eiablage, zum anderen kann die Eiablage durch Ölsäure alleine oder im Gemisch stimuliert werden. Pheromone, die die Eiablage stimulieren sind nicht viele bekannt. Eine Ausnahme ist z.B. die Wüstenheuschrecke *Schistocera gregaria*. Sie wird zu Stellen gelockt an denen andere

Weibchen Eier gelegt haben und legt dort ebenfalls ihre Eier ab. Nach der Eiablage verschließt sie das Loch in das die Eier gelegt wurden mit einem Propfen aus Schaum. Flüchtige Verbindungen aus diesem Schaum locken art eigene Weibchen zur Eiablage an [40].

Neben den Fettsäuren waren in den aktiven Fraktionen der Testreihe COC30d Alkane vorhanden. Wahrscheinlich ist die abschreckende Funktion der Larvenspuren auf diese Alkane zurückzuführen. Bei früheren Biotests getestete Alkane erwiesen sich allerdings als inaktiv. Das stärkt die Vermutung, dass für die Wirkung als ODP eine Mischung verantwortlich ist. Weibchen des aphidophagen Zweipunktmarientkäfers *Adalia bipunctata* reagieren ähnlich abgeneigt auf art eigene Larvenspuren wie *Chrysopa oculata* [41]. Diese Larvenspuren bestehen aus einem komplexen Gemisch von verzweigten und unverzweigten Alkanen. Die Hauptkomponente ist n-Pentacosan. Alkane sind in der Natur weit verbreitet und ihre Verwendung als ODP bringt zwei große Vorteile. Sie breiten sich leicht auf der hydrophoben Kutikula der Pflanzen aus, und da Alkane nicht so schnell oxidiert werden und damit verhältnismäßig stabil sind, behalten Larvenspuren ihre Aktivität als ODP für längere Zeit. Das ist wichtig, damit die geschlüpften Larven auch genügend Zeit haben um ohne Nahrungskonkurrenten ihren Entwicklungszyklus zu durchlaufen. Andererseits besitzen Blätter ebenfalls Alkane, die die Wirkung der Insektenalkane verfälschen könnten.

So weit bekannt wurden Larvenspuren bisher noch nicht getrennt um einzelne Verbindungen für die biologische Aktivität verantwortlich zu machen.

In Coccinelliden befinden sich die ODP in Larvensekreten, die über die Spitze des Abdomens abgegeben werden [42]. Diese Sekrete ermöglichen es der Larve, sich an die Oberfläche des Substrates anzuheften, besonders wenn sie auf der Blattunterseite nach Blattläusen sucht. Auf diese Weise hinterläßt die Larve bei Nahrungssuche zahlreiche Markierungen auf dem Blatt. Frische Sekrete waren bei Tests effektiver als Larvenextrakte. Die Persistenz des ODP-Effekts war gering, was darauf hindeutet, dass diese Substanzen instabil sind [43]. Mittels Nanospray-ESI-MS wurde untersucht, ob in den Larvenextrakten Substanz vorhanden sind die nicht mit GC-MS analysiert werden können. Allerdings wurde keine weiteren Substanzen gefunden.

Bei *C. sexmaculata* haben die Biotests mit 12-Pentacosen gezeigt, dass diese Verbin-

dung als ODP wirkt. Der Effekt ist von der Konzentration abhängig und mit abnehmender Konzentration an 12-Pentacosen nimmt die Wirkung ab. Allerdings weisen Larvenextrakte eine höhere biologische Aktivität als 12-Pentacosen in der höchsten getesteten Konzentration (1 mg/ml) auf. Daher tragen eventuell noch andere Substanzen zur biologischen Aktivität bei. In den anderen untersuchten Coccinelliden konnten ebenfalls Alkene nachgewiesen werden. Die interspezifischen Effekte, die zwischen *C. sexmaculata* und *C. limbifer* bzw. *C. undecimnotata* beobachtet wurden, lassen vermuten, dass die Substanzen, die dafür verantwortlich sind, identisch oder ähnlich sind [13]. Das in *C. undecimnotata* und *C. limbifer* vorhandene 9-Pentacosen wurde an diesen Tieren auf seine Wirkung als ODP getestet (Abb. 3.34). Das 9-Pentacosen war

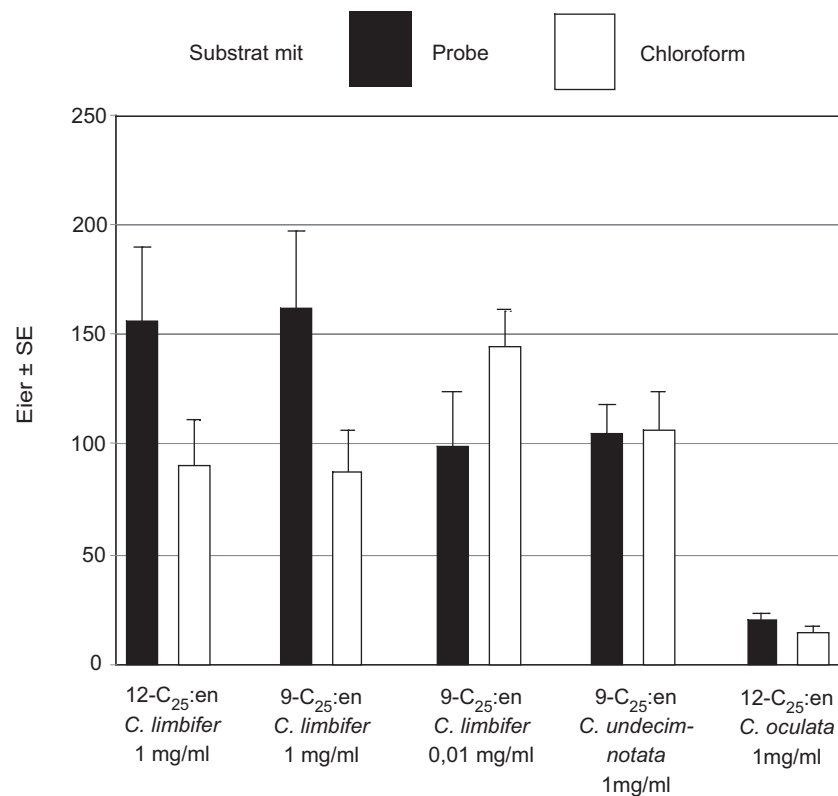


Abbildung 3.34: Anzahl der gelegten Eier bei den Biotests zur interspezifischen Aktivität der Alkene. (Z)-9-Pentacosen wurde an *C. limbifer* und an *C. undecimnotata* getestet, (Z)-12-Pentacosen an *C. oculata* und *C. limbifer*.

vorrätig, die Konzentration der Testlösung war 1 mg/ml. In beiden Fällen erwies sich das 9-Pentacosen als ineffektiv und kann daher bei diesen Tieren kein OPD sein.

In der Natur ist Pentacosen weit verbreitet. So ist z.B. im Heuschreckbohrer *Megacyllene robiniae* (Z)-9-Pentacosen ein Sexpheromon und in der Fruchtfliege *Drosophila*

*virilis* ist (*Z*)-11-Pentacosen das Hauptsexpheromon der Weibchen [44, 45].

Die säulenchromatographische Trennung der Larvenextrakte mit Kieselgel und Sephadex LH-20 war teilweise unbefriedigend. Daher bietet sich an, für die Fraktionierung mit anderen chromatographischen Trennmethoden durchzuführen. Dafür geeignet sind HPLC und präparative GC.

## 4 Pyrrolizidinalkaloide und Pheromone bei *Estigmene acrea*

### 4.1 Einleitung

Pyrrolizidinalkaloide (PA) stellen eine große Klasse von sekundären Naturstoffen dar, die von Pflanzen gebildet werden. Bisher sind über 360 Strukturen bekannt [46]. Pyrrolizidinalkaloide sind Ester oder Diester, die aus einer Necinbase (Pyrrolizidinaminoalkohol) und einer Necinsäure aufgebaut sind. Die Necinsäuren sind in der Regel Mono- oder Dicarbonsäuren. In seltenen Fällen enthält die Säure einen Aromaten. Necinsäure und -base bilden macrocyclische Diester, offenkettige Diester oder Monoester. Basierend auf taxonomischen und biogenetischen Prinzipien können fünf Klassen unterschieden werden (Abb. 4.1) [47].

Pyrrolizidinalkaloide sind in der Natur weit verbreitet. Typische Familien mit Gattungen, die Alkaloide enthalten, sind die Korbblütengewächse (Asteraceae: z.B. *Senecio*, *Eupatorium*), die Raublattgewächse (Boraginaceae: z.B. *Heliotropium*), Hülsenfrüchtler (Fabaceae: z.B. *Crotalaria*) und die Orchideen (Orchidaceae: z.B. *Phalaenopsis*). Über 95 % der alkaloid-haltigen Pflanzen gehören zu diesen vier Familien [47].

Es wird angenommen, dass die Pyrrolizidinalkaloide den Pflanzen zur Verteidigung gegen Herbivore dienen, allerdings gibt es wenig direkte Beweise. Sie wirken lebertoxisch bei Wirbeltieren [48] und mutagen bei Insekten [49]. Die Giftwirkung der Alkaloide basiert auf deren Umwandlungsprodukte. Bei der Aufnahme sind sie nicht toxisch, werden aber durch microsomales Lebercytochrom P-450 bioaktiviert und in Pyrrol-derivate überführt. Diese reaktiven Alkylierungsmittel können mit der DNA reagieren [50].

Zahlreiche herbivore Insekten haben sich dem Schutzmechanismus der Pflanzen derart

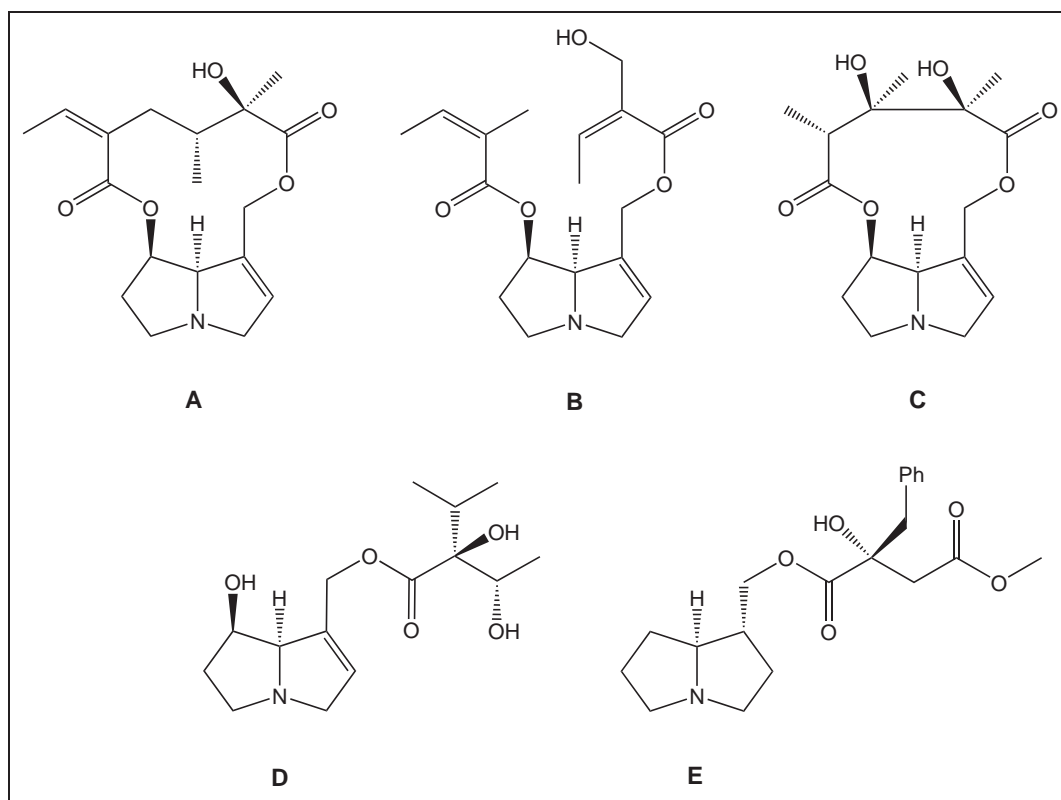


Abbildung 4.1: Typen von Pyrrolizidinalkaloiden; A: Senecionin Typ, B: Triangularin Typ, C: Monocrotalin Typ, D: Lycopsamin Typ, E: Phalaenopsin Typ

angepasst, dass sie die PA ohne Schaden aufnehmen können. Sie wandeln sie in eigene Alkaloide um und schützen sich auf diese Weise vor Feinden [51]. Diese angepassten Spezies sind bei den Schmetterlingen und Motten (Lepidoptera), Käfern (Coleoptera), Springschrecken (Orthoptera) und den Gleichflüglern (Homoptera) zu finden. Sie sind durch eine auffällige Färbung gekennzeichnet, die ihre Ungenießbarkeit potentiellen Feinden signalisiert.

Das beste untersuchte Beispiel für die eigene Verwendung von PA aus Pflanzen stellt der Bärenspinner (Arctiidae) *Utetheisa ornatix* dar. Die Larven von *U. ornatix* nehmen PA aus ihrer Hauptwirtspflanze, der Klapperhülse *Crotalaria* spp., auf und behalten diese während ihrer ganzen Metamorphose bis hin zum erwachsenen Schmetterling. Diese Alkaloide dienen den Männchen u.a. als Vorstufe für die Biosynthese des Balzpheromons Hydroxydanaidal (**14**). Beim Balzen wird Hydroxydanaidal über Duftpinsel (Coremata), die kurzzeitig umgestülpt werden, abgegeben. Ein hoher Hydroxydanaidalgehalt ist ein Zeichen für einen hohen Gehalt an PA im Körper des Männchens. Zusätzlich zeichnen sich Männchen mit einem hohen PA-Gehalt durch eine größere



Körpergröße aus [52]. Diese Kriterien spielen bei der Partnerwahl der Weibchen eine entscheidende Rolle. Bei der Paarung überträgt das Männchen einen Teil seiner PA's auf das Weibchen, wo diese im Körper verteilt werden [53]. Bei der Eiablage überträgt das Weibchen schließlich einen Teil seiner PA auf die Eier, die dadurch auf effiziente Weise vor Feinden geschützt werden [54].

Die sichere Aufnahme und Speicherung der PA wird durch das Enzym Senecionin *N*-Oxygenase gewährleistet. Dieses Enzym transformiert mit einer breiten Substratspezifität sehr effizient die toxische freie Base in ihr nicht toxisches *N*-Oxid. Senecionin *N*-Oxygenase wurde in allen bisher untersuchten PA aufnehmenden Arctiiden nachgewiesen. In den Arctiiden werden zunächst alle aufgenommenen PA-*N*-Oxide im Darm reduziert und als freie Base in der Hämolymphe absorbiert, wo die Entgiftung durch *N*-Oxidation stattfindet [55].

Über den Mechanismus, mit dem die strukturell sehr mannigfaltigen PA von den Bärenspinnern in das Pheromon Hydroxydanaidal (**14**) umgewandelt werden, ist wenig bekannt. Bisher gibt es eine detaillierte Untersuchung über die Biosynthese des Hydroxydanaidals im asiatischen Bärenspinner *Cretonotos transiens*. Diese Untersuchun-

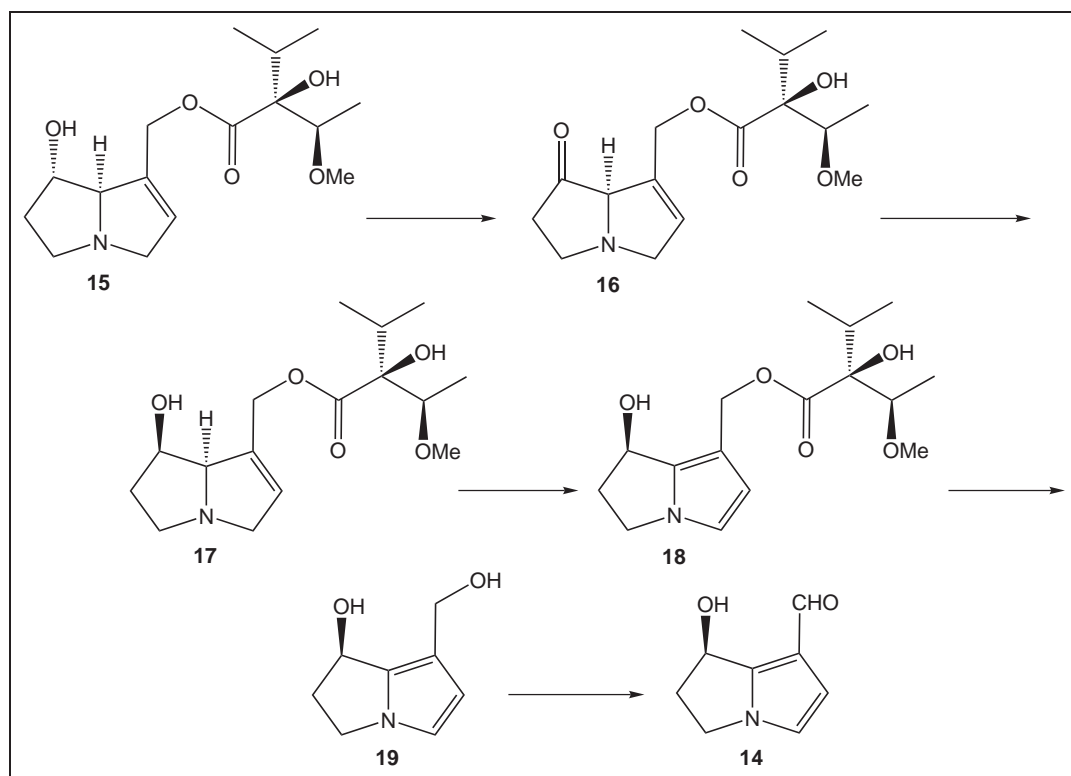


Abbildung 4.2: Biosynthese von Hydroxydanaidal (**14**) bei *Cretonotos transiens*

gen wurden mit dem Monoester Heliotrin (**15**) durchgeführt (Abb. 4.2) [56]. Heliotrin (**15**) wird in das Keton (**16**) überführt und stereoselektive Reduktion ergibt das (7*S*)-konfigurierte Epiheliotrin (**17**). Aromatisierung liefert Dehydroheliotrin (**18**), welches zu Dehydroretronecin (**19**) hydrolysiert wird. Durch anschließende Oxidation entsteht Hydroxydanaidal (**14**).

## 4.2 *Estigmene acrea*

Der Bärenspinner *Estigmene acrea* (Abb. 4.3) ist in Nord- und Mittelamerika beheimatet. Dort besiedelt er Wiesen, Felder, Weiden und Sümpfe. Der Bärenspinner ist ein Generalist; 69 Wirtspflanzen sind für die Larven bekannt [58]. Als Nahrungsquellen dienen hauptsächlich Krautpflanzen, z.B. weißer Gänsefuß, Hundefenchel (*Eupatorium capillifolium*), Blasenkirnschen (*Physalis* spp.) und Malve (*Anoda* spp.). Zusätzlich dazu fressen sie auch Gemüse und Feldfrüchten und schädigen diese dadurch. Zusätzlich zu den pflanzlichen Nahrungsquellen nutzt *Estigmene acrea* manche Pflanzen auch als Alkaloidquellen. In Südarizona sind die hauptsächlichsten PA-Quellen das Greiskraut *Senecio longilobus* und die Klapperhülle *Crotalaria pumila*.



Abbildung 4.3: Männchen von *Estigmene acrea*<sup>[57]</sup>

Die erwachsenen Motten sind relativ groß mit einer Flügelspannweite von 35–68 mm. Die Vorderflügel sind weiß mit bis zu 20 kleinen, irregulär geformten schwarzen Punkten. Die Hinterflügel sind beim Männchen gelb, beim Weibchen weiß mit 3–4 schwarzen Punkten. Die meisten der Abdomensegmente sind gelb. Die Raupen können bis zu 55 mm groß werden. Ihre Farbe ist ziemlich variabel und reicht von hell über braun bis zu schwarz. Sie besitzen lange Borsten, die in Büscheln vom Körper abstehen. Damit schützen sie sich vor Fraßfeinden. Es gibt 5–7 Larvenstadien und die Entwicklung der Larve dauert zwischen 24–37 Tage [59].

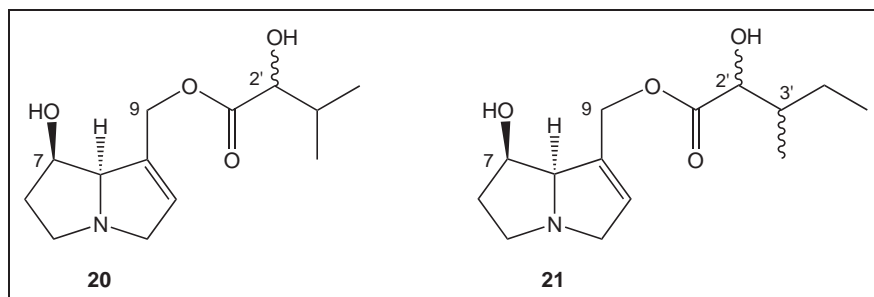
## 4.3 Metabolismus von Pyrrolizidinalkaloiden bei *Estigmene acrea*

Im Gegensatz zu monophagen Bärenspinnern wie *U. ornatix*, die auf eine PA-haltige Pflanze spezialisiert sind und nur diese als Nahrungs- und Alkaloidquelle benutzen, nutzt der Bärenspinner *E. acrea* verschiedene PA-haltige Pflanzen ausschließlich als Alkaloid- und nicht als Nahrungsquelle. In seinem Habitat sind die PA-haltigen Pflanzen relativ selten und müssen von der umherziehenden Larve gefunden werden [55]. Die Alkaloide sind starke Phagostimulantien und werden durch spezifische Geschmacksrezeptoren, die auch geringe PA-Konzentrationen detektieren, erkannt. In Zusammenarbeit mit den Arbeitsgruppen von Hartmann (TU Braunschweig), Bernays (University of Arizona) und Singer (Wesleyan University) wurde die gute Anpassung von *E. acrea* an die verschiedenen Typen von Pyrrolizidinalkaloiden untersucht. Zu diesem Zweck wurden Alkaloide aus verschiedenen Pflanzen, die Necinbasen Retronecin und Heliotridin und das arteigene Alkaloid Creatonotin B verfüttert und das Alkaloidprofil von Larven, Puppen und erwachsenen Tieren bestimmt. Zusätzlich wurde auch die Menge des von den Männchen gebildeten Hydroxydanaidals in Abhängigkeit von der Diät der Tiere bestimmt.

### 4.3.1 Metabolisierung von Creatonotin B

Die Creatonotine A (**20**) und B (**21**) (Abb. 4.4) sind PA, die von den Insekten hergestellt werden. Von Pflanzen aufgenommene PA werden hydrolysiert und die freigesetzte Necinbase Retronecin (**22**) wird mit 2-Hydroxy-3-methylbutan- bzw. 2-Hydroxy-3-methylpentansäure verestert. Diese Säuren stammen aus dem Metabolismus der Insekten [56, 60]. Die absolute Konfiguration von Creatonotin B wurde bisher noch nicht eingehend untersucht. Es wird zwar von einer (2'S,3'S) Konfiguration ausgegangen [56], aber bisher wurde eine Trennung aller möglichen Isomere nicht durchgeführt.

Für die Fütterungsexperimente wurden (2'S,3'S)- und (2'R,3'R)-Creatonotin B benötigt, welche nach einer Vorschrift von Gelbaum et al. synthetisiert wurden (Abb. 4.5) [61]. Dazu wurde Retronecin (**22**) mit 1,1'-Carbonyldiimidazol (CDI) aktiviert und mit (2*S*,3*S*)-2-Hydroxy-3-methylpentansäure (**23**) bzw. (2*R*,3*R*)-2-Hydroxy-3-methylpen-

Abbildung 4.4: Creatontin A (**20**) und Creatonotin B (**21**)

tansäure (**24**) zur Reaktion gebracht. Die Synthese des (2'*S*,3'*S*)-Creatonotin B (**21a**) lieferte selektiv den O<sup>9</sup>-Ester, während bei der Synthese des (2'*R*,3'*R*)-Creatonotin B (**21b**) der O<sup>7</sup>-Ester (12 %) und der Diester (11 %) als Nebenprodukte entstanden, die nicht abgetrennt werden konnten. Abb. 4.6 zeigt des Massenspektrum des TMS-Derivats von (2'*R*,3'*R*)-Creatonotin B (**21b**). Das Massenspektrum des (2'*S*,3'*S*)-Enantiomers ist identisch.

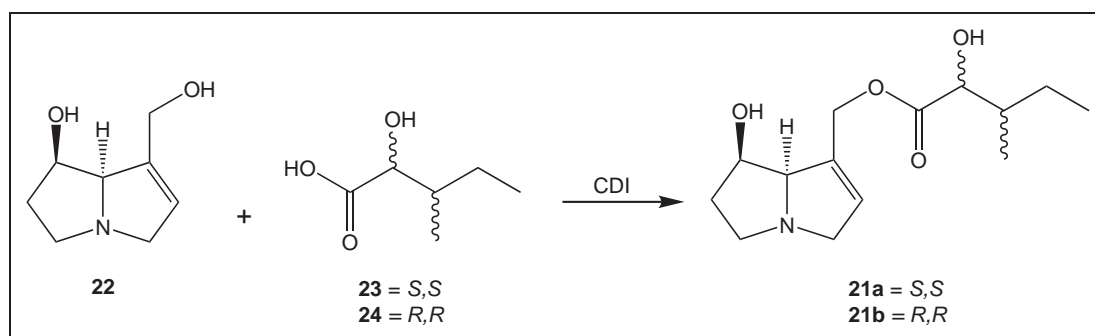


Abbildung 4.5: Synthese von Creatonotin B nach [61]

Nach dem Verfüttern von (2'*S*,3'*S*)- und (2'*R*,3'*R*)-Creatonotin B wurde in der Arbeitsgruppe Hartmann das Alkaloidprofil von Puppen und erwachsenen Tieren beider Geschlechter bestimmt (Tab. 4.1) [62].

Diese Profile zeigen neben dem jeweils verfütterten Creatonotin B ein ganzes Spektrum an Insektenalkaloiden. Das weist darauf hin, dass ein Teil des verabreichten Creatonotin B hydrolysiert und das Retronecin (**22**) anschließend wieder verestert wurde. Geringe Mengen von ungebundenem Retronecin konnten sowohl in den Larven und erwachsenen Tieren beider Geschlechter beobachtet werden. Die Isocreatonotine A (**25**) B (**26**) sind die O<sup>7</sup>-Ester der insektenspezifischen Säuren 2-Hydroxy-3-methylbutan- und 2-Hydroxy-3-methylpentansäure mit Retronecin (Abb. 4.7).

Als neue Alkaloide wurden in der Arbeitsgruppe Hartmann die O<sup>7</sup>,O<sup>9</sup>-Diester von Re-

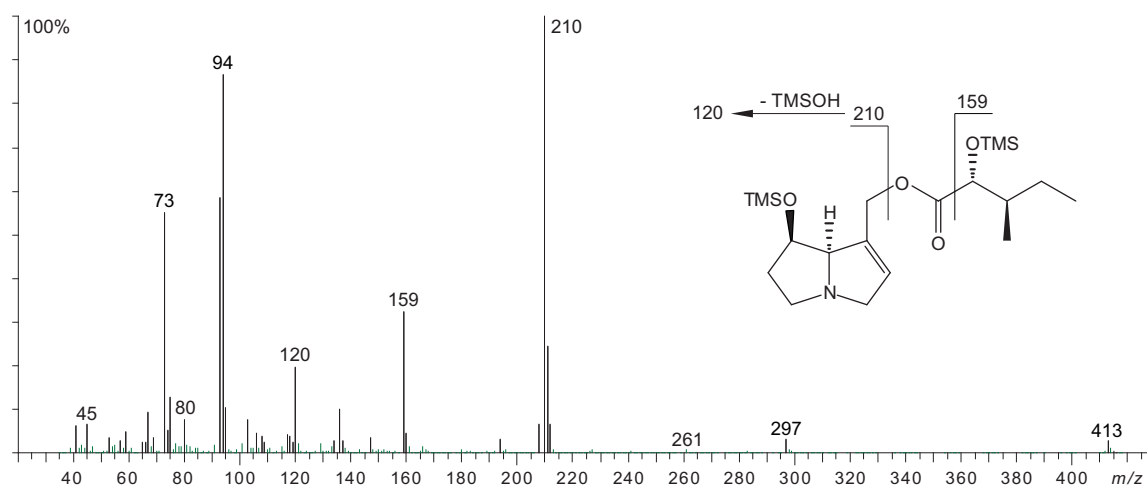


Abbildung 4.6: Massenspektrum und charakteristische Fragmentierung des TMS-Derivats von (2'*R*,3'*R*)-Creatonotin B (**21b**).

tronecin mit den 2-Hydroxysäuren identifiziert. Diese Alkaloide wurden Platyphorine genannt. Bemerkenswert ist, dass die Platyphorine nur bei den weiblichen erwachsenen Tieren nachzuweisen sind. Es wurden 4 Platyphorine (**27**, **28**, **29**, **30**) nachgewiesen, die die möglichen Kombinationen der zwei 2-Hydroxysäuren mit Retronecin darstellen (Abb. 4.7). Die Menge der Insektenalkaloide, die von den Puppen erhalten wurden,

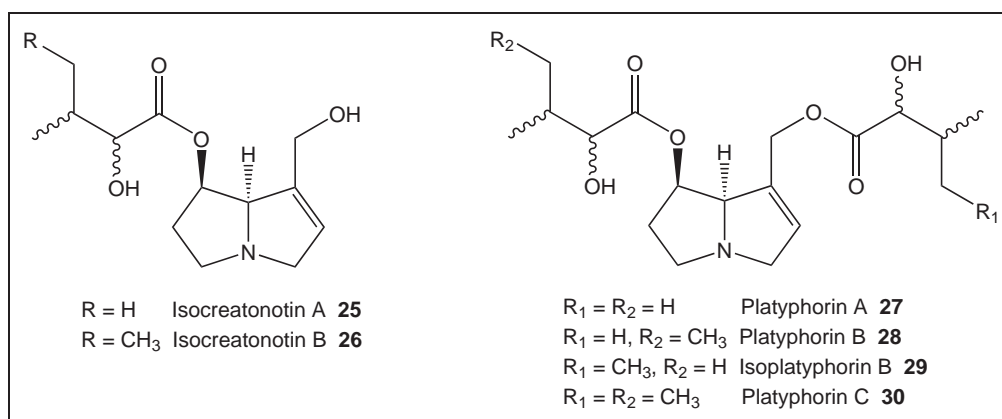


Abbildung 4.7: Isocreatonotine und Platyphorine

sind bei den Fütterungsexperimenten mit Creatonotin B in derselben Größenordnung. Dagegen scheinen erwachsene Weibchen mehr Alkaloide zu akkumulieren als die erwachsenen Männchen. Die Ursache dafür ist, dass bei den Männchen etwas die Hälfte der Alkaloide bzw. Creatonotine für die Bildung des Sexualpheromons Hydroxydanai-dal (**14**) genutzt wird.

Tabelle 4.1: Alkaloidprofil von Puppen und erwachsenen Tieren nach dem Verfüttern von (2'S,3'S)- und (2'R,3'R)-Creatonotin B an Larven

Alkaloid	rel. Häufigkeit (%)							
	(2'S,3'S)-Creatonotin B ( <b>21a</b> )				(2'R,3'R)-Creatonotin B ( <b>21b</b> )			
	Pup.♂	Pup.♀	Ad.♂	Ad.♀	Pup.♂	Pup.♀	Ad.♂	Ad.♀
Retro-necin ( <b>22</b> )	7,0 ±2,1	5,6 ±0,9	2,2 ±1,6	2,7 ±0,5	8,0 ±1,0	6,5 ±1,5	1,4 ±0,7	2,8 ±0,7
Isocreatonotin A ( <b>25</b> )	2,3 ±0,3	3,0 ±0	2,5 ±0,2	0,9 ±0,2	2,0 ±0	1,5 ±0,5	0,6 ±0,3	0,8 ±0,2
Creatonotin A ( <b>20</b> )	8,0 ±0,6	9,3 ±0,3	6,8 ±1,0	3,4 ±0,3	6,0 ±0,6	5,0 ±1,0	4,1 ±0,6	2,2 ±0,2
Isocreatonotin B ( <b>26</b> )	7,0 ±3,6	16,7 ±3,4	13,7 ±1,7	13,1 ±1,9	21,3 ±2,3	17,2 ±2,0	21,8 ±1,0	3,2 ±1,0
Creatonotin B ( <b>21</b> )	75,7 ±5,1	65,7 ±3,4	74,7 ±2,2	48,8 ±2,5	62,3 ±0,7	70,0 ±2,0	72,4 ±1,5	48,0 ±2,9
Platyphorin A ( <b>27</b> )				0,4 ±0,2				tr
Platyphorin B ( <b>28</b> )				3,9 ±0,5				2,4 ±0,5
Isoplatyphorin B ( <b>29</b> )				1,8 ±0,3				3,2 ±0,5
Platyphorin C ( <b>30</b> )				25,2 ±4,2				28,0 ±3,6
Alkaloidgehalt ( $\mu\text{g}/\text{Ind.}$ )	57,7 ±15,9	71,3 ±26,9	31,2 ±4,1	99,1 ±19,4	67,3 ±7,2	83,0 ±28,0	37,6 ±10,8	64,6 ±4,8

Pup.=Puppe, Ad.=erwachsenes Tier, tr=Spur (trace)

In Zusammenarbeit mit T. Beuerle und C. Theuring wurde die absolute Konfiguration von Creatonotin B in *E. acrea* ermittelt. Alle vier Enantiomere der 2-Hydroxy-3-methylpentansäure können an einer Cyclodextrinphase (Hydrodex-6-TBDM9) getrennt werden [63]. Larven von *E. acrea* wurden mit einer alkaloidhaltigen Diät bzw. synthetischem (2'*S*,3'*S*)- und (2'*R*,3'*R*)-Creatonotin B gefüttert. Die isolierten Alkaloide wurden mit Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH) gespalten und die Konfiguration der 2-Hydroxy-3-methylpentansäure mittels chiraler GC bestimmt (Tab. 4.2).

Tabelle 4.2: Enantioselektive Analyse der Stereochemie von 2-Methyl-3-hydroxypentansäure aus Creatonotin B

Diät	Entwicklungsstufe	Isomerenverhältnis (%)			
		2' <i>S</i> ,3' <i>R</i>	2' <i>R</i> ,3' <i>S</i>	2' <i>R</i> ,3' <i>R</i>	2' <i>S</i> ,3' <i>S</i>
<i>Helitropium indicum</i>	adult ♂	0	39	0	61
<i>Eupatorium cannabinum</i>	adult ♂	0	68	0	32
<i>Crotalaria pumila</i>	Puppe ♂ + ♀	0	94	0	6
(2' <i>R</i> ,3' <i>R</i> )-Creatonotin B ( <b>21b</b> )	adult ♂	0	34 (56) <sup>a</sup>	39	27 (44) <sup>a</sup>
	Puppe ♂	0	25 (45) <sup>a</sup>	43	31 (55) <sup>a</sup>
	Puppe ♂	0	27 (59) <sup>a</sup>	54	19 (41) <sup>a</sup>
(2' <i>S</i> ,3' <i>S</i> )-Creatonotin B ( <b>21a</b> )	adult ♂	0	48	<1	51
	Puppe ♀	0	33	0	67
	Puppe ♂	0	34	0	67

<sup>a</sup> in Klammern: Isomerenverhältnisse der (2'*R*,3'*S*) und (2'*S*,3'*S*) Enantiomere

Die von den Pflanzen aufgenommenen Alkaloide werden zum Creatonotin B in der (2'*R*,3'*S*) und (2'*S*,3'*S*)-Konfiguration umgewandelt. Das 2'*R*:2'*S*-Enantiomerenverhältnis ist variabel. So werden z.B. beim Verfüttern von *H. indicum* 61 % 2'*S*-konfiguriertes Creatonotin B erhalten, während beim Verfüttern von *C. pumila* nahezu reines (94 %) 2'*R*-konfiguriertes Creatonotin B nachgewiesen wird. 3'*R*-Konfigurierte Enantiomere kommen nicht vor.

Verfüttern von synthetischem (2'*R*,3'*R*)-Creatonotin B (**21b**) zeigt, dass 40–55 % unverändert in das Erwachsenenstadium übernommen werden. Der Rest wird vermutlich hydrolysiert und zu insektenspezifischem Creatonotin B mit der 3'*S*-Konfiguration um-

gewandelt. Wird das (2'*S*,3'*S*)-Creatonotin B (**21a**) verfüttert, wird ein Gemisch der (2'*R*,3'*S*) und (2'*S*,3'*S*)-Enantiomere erhalten.

### 4.3.2 Hydroxydanaidalgehalt in Abhängigkeit von der Alkaloidquelle

*Estigmene acrea* ist in der Lage die verschiedenen Typen der PA als Vorstufe für die Bildung des Sexualpheromones Hydroxydanaidal (**14**) zu nutzen. Zur quantitati-

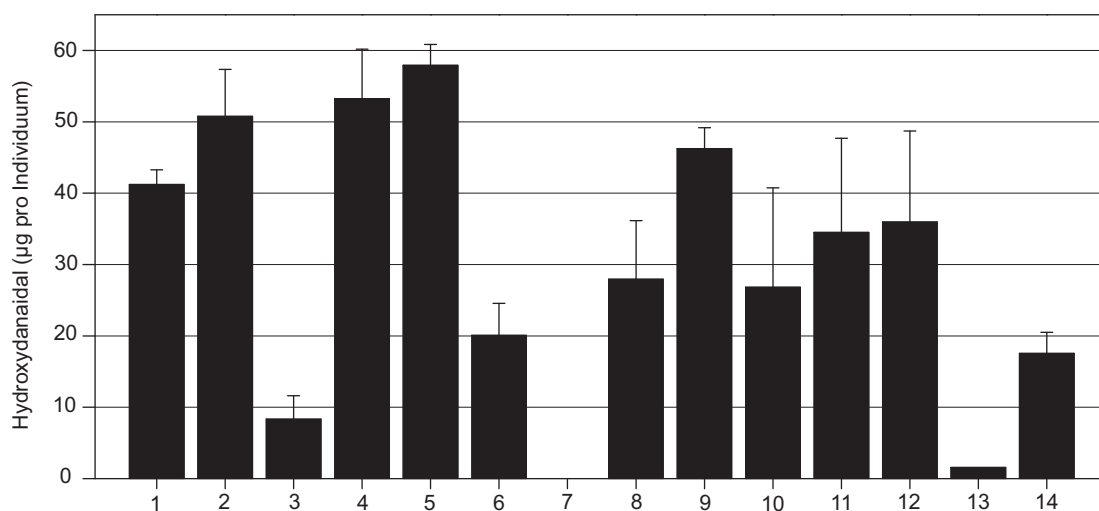


Abbildung 4.8: Hydroxydanaidalgehalt in der Coremata von erwachsenen Männchen von *E. acrea* in Abhängigkeit von der PA-Quelle, die an die Larven verfüttert wurde 1: *Senecio jacobaea*, 2: *S. vernalis*, 3: *S. congestus*, 4: *Eupatorium cannabinum*, 5: *Heliotropium indicum* 6: *Parsonia laevigata*, 7: *Phalaenopsis* spp., 8: Heliotrin, 9: Retronecin, 10: (2'*S*,3'*S*)-Creatonotin B, 11: (2'*R*,3'*R*)-Creatonotin B, 12: Heliotridin, 13: Senkirkin, 14: Sarracin

ven Pheromonanalyse wurden von E. Bernays die abgeschnittenen Coremata durch Aufblasen mit Luft expandiert und bis zur Analyse in einem Gläschen mit 0,2 ml Dichlormethan aufbewahrt. Die quantitative Analyse erfolgte gaschromatographisch mit Eicosan als internem Standard. Da keine Responsfaktoren bestimmt wurden, kam es zu einer systematischen Unterbestimmung des Hydroxydanaidalgehaltes (Abb. 4.8).

Alkaloide aus Pflanzen mit Retronecin-haltigen PA werden von den Larven gut aufgenommen und geben in den erwachsenen Männchen Hydroxydanaidalgehalte von 30–50 µg pro Tier. Heliotridin ist das (7*S*)-Epimer von Retronecin und wird von den Larven von *E. acrea* effektiv zu Retronecin (**22**) mit einer (*R*)-Konfiguration am C-7 epimerisiert. Das bedeutet auch, dass die PA, die Heliotridin als Necinbase enthalten



(z.B. Heliotrin) in die entsprechenden Retronecinester umgewandelt werden. Die Epimerisierung von Heliotridin zu Retronecin wurde von Schulz et al. bei *C. transiens* beschrieben [56].

In *S. congestus* sind Platyphyllin (**31**) und Senkirkin (**32**) (Abb. 4.9) die Hauptalkaloide. Senkirkin ist analog dem Senecionin aufgebaut, statt Retronecin ist Otonecin die Necinbase. Senkirkin kann nicht durch *N*-Oxidation entgiftet werden und wird daher nicht von den Larven metabolisiert. Dagegen werden die Platyphylline mit der gleichen Effizienz wie die Retronecinester aufgenommen. Daher können Tiere, die *S.*

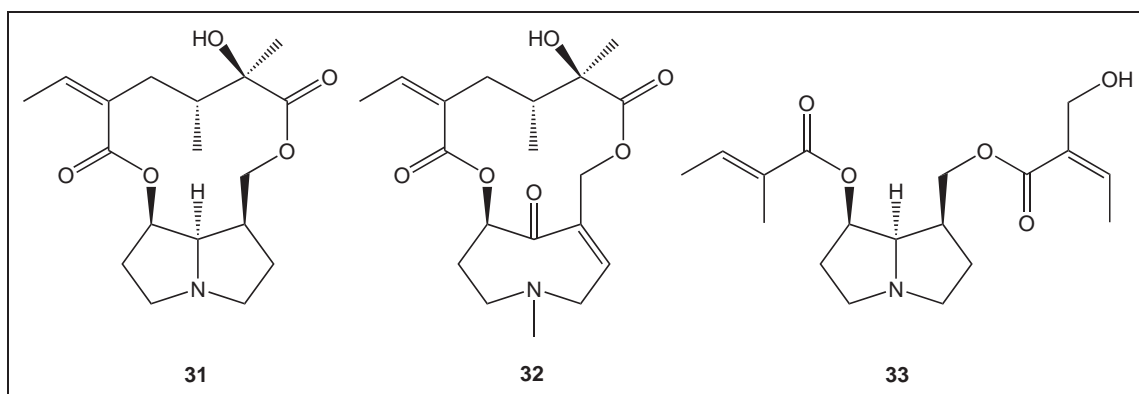


Abbildung 4.9: Platyphyllin (**31**), Senkirkin (**32**) und Sarracin (**33**)

*congestus* als Diät erhalten haben, Hydroxydanaidal (**14**) bilden, wenn auch in kleinen Mengen verglichen zu den Diäten aus *S. jacobaea* und *S. vernalis*. Alkaloide des Phalaenopsin-Typs werden nicht als Hydroxydanaidalquellen genutzt. Sarracin (**33**) enthält Platynecin als Necinbase und wird ebenfalls von *E. acrea* zu Hydroxydanaidal metabolisiert.

In Abb. 4.10 ist der Metabolismus der pflanzlichen PA in *E. acrea* dargestellt. Demnach werden die von den Pflanzen aufgenommen PA zunächst zu Retronecin (**22**) hydrolysiert. Alkaloide mit einer (7*S*)-Konfiguration werden durch Epimerisierung in Retronecin umgewandelt. Retronecin wird anschließend mit den Necinsäuren 2-Hydroxy-3-methylbutan- bzw. 2-Hydroxy-3-methylpentansäure zu den insektenspezifischen Creatonotinen A (**20**) bzw. B (**21**) verestert. In geringen Mengen können sich die Isocreatonotone A (**25**) und B (**26**) bilden. Aus den Creatonotinen A und B wird bei den Männchen das Sexualpheromon Hydroxydanaidal (**14**) gebildet. Bei den Weibchen sind die Creatonotine und Isocreatonotine Vorstufen für die Bildung der Platyphorine (**27-30**). Alkaloide mit 1,2-Dihydroretronecin (= Platynecin) als Necinbase, z.B. Sarracin

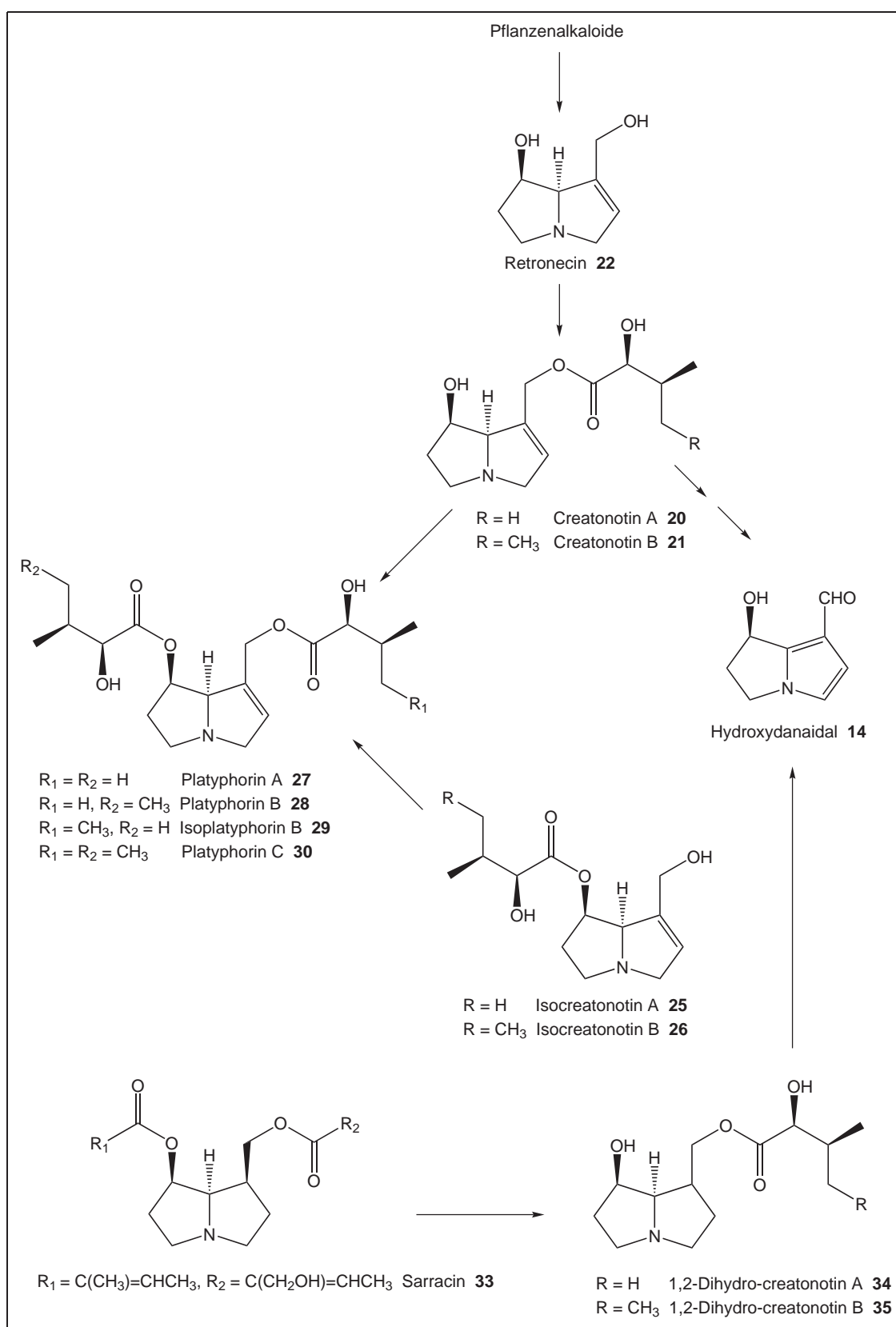


Abbildung 4.10: Vorgeschlagener Metabolisierung von PA in *Estigmene acrea* zu den Creatonotinen bzw. Hydroxydanaidal

(**33**) werden von *E. area* in die 1,2-Dihydrocreatonotine A (**34**) und B (**35**) umgewandelt und durch Aromatisierung des Platyneceins entsteht Hydroxydanaidal (**14**).

### 4.3.3 Biosynthese von Lycopsamin-Typ Alkaloiden

Für die Biosynthese von Alkaloiden des Lycopsamin-Typs **36** sind prinzipiell zwei Reaktionswege denkbar (Abb. 4.11). Nach Weg **A** wird ausgehend von 2-Oxovaleriansäure

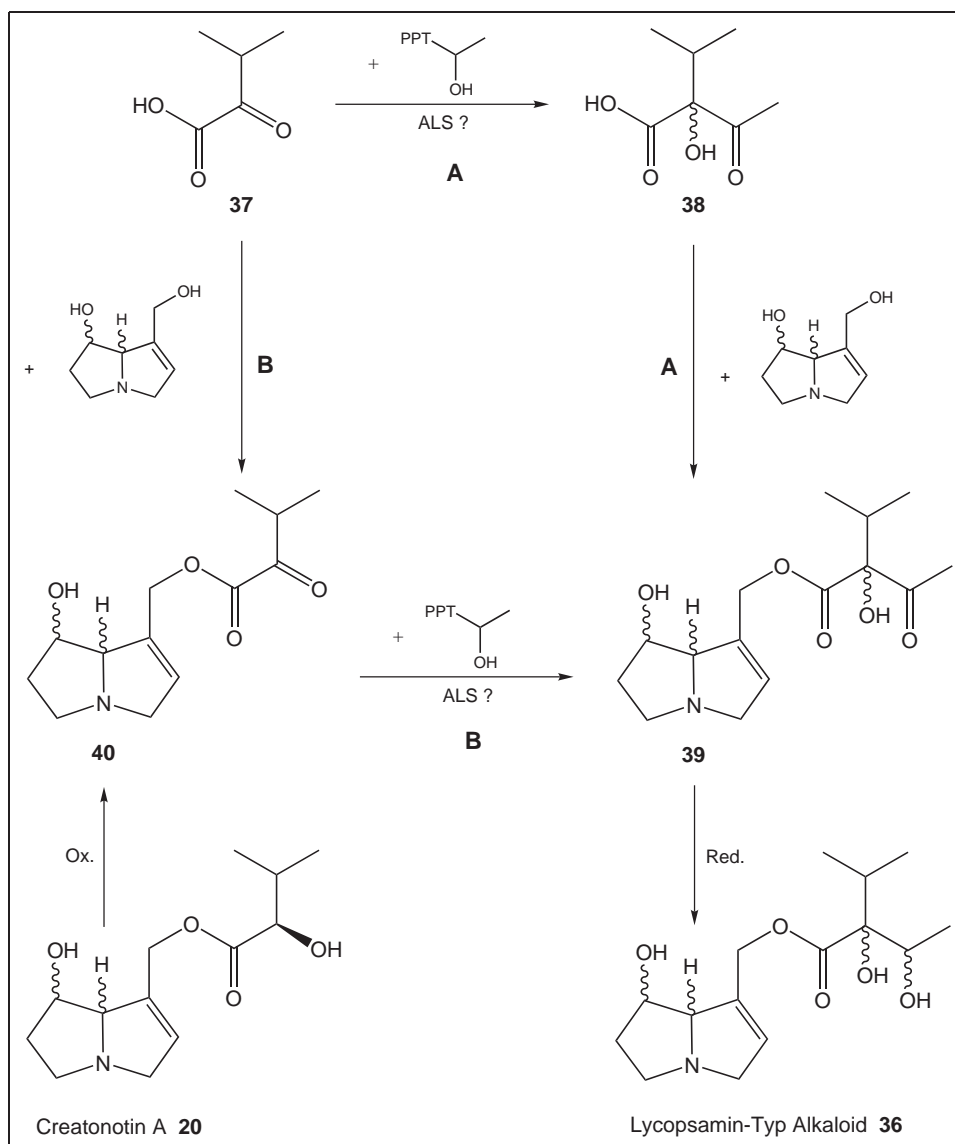


Abbildung 4.11: Mögliche Wege zur Biosynthese von Alkaloiden des Lycopsamin-Typs; ALS = Acetolactatsynthase

(**37**) zunächst durch Einwirken von 2- $\alpha$ -Hydroxyethylthiaminpyrophosphat (HETPP) die 2-Hydroxy-2-isopropyl-3-oxobuttersäure (**38**) gebildet. Durch Veresterung mit der

Necinbase (Retronecin oder Heliotrin) entsteht das Pro-PA **39**, das dann durch Reduktion der 3-Oxo-Gruppe zum entsprechenden Alkaloid **36** umgewandelt wird.

Nach Reaktionsweg **B** erfolgt zuerst die Veresterung der 2-Oxovaleriansäure (**37**) mit der Necinbase und erst dann erfolgt durch HETPP die Kettenverlängerung der Necinsäure zum Pro-PA **39**. Anschließende Reduktion ergibt das Alkaloid vom Lycopsamin-Typ **36**. Bei diesem Weg ist das Insektenalkaloid Creatonotin A (**20**) ein direkter Vorläufer. Durch eine Oxidation des Creatonotins entsteht das Prä-Pro-PA **40**. Nach Kettenverlängerung und Reduktion wird das Alkaloid **36** erhalten.

Für biosynthetische Untersuchungen des Weges **B** sollte die Verbindung **40** synthetisiert werden, damit diese mit HETPP und Acetolactatsynthase (ALS) umgesetzt werden kann. Analog zur Synthese von Creatonotin B sollte Retronecin (**22**) mit 2-Oxovaleriansäure (**37**) verestert werden (s. Abb. 4.12). In Tab. 4.3 sind die Versuche zur Kopplung von Retronecin mit der 2-Oxovaleriansäure unter Verwendung von Aktivierungsreagenzien zusammengefasst.

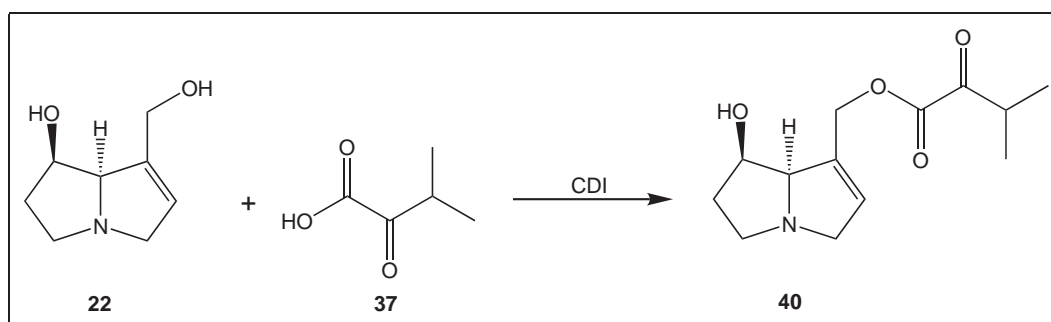


Abbildung 4.12: Synthese des 2-Oxoalkaloides **40**

Allerdings fand die Veresterung über diesen direkten Weg nicht statt und es wurde ein unübersichtliches Gemisch von Nebenprodukten erhalten. Ein nächster Ansatzpunkt war die Aktivierung der Säure mit CDI. Als Modellalkohol zur Esterbildung wurde Methanol gewählt. Auch hier war der erwartete Methylester der 2-Oxovaleriansäure nur ein Nebenprodukt. In einem weiteren Versuch (# 5) wurde Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) als Aktivierungsmittel für die Säure verwendet. Ein Test mit Methanol als Modellalkohol verlief positiv und so wurde diese Reaktion mit Retronecin durchgeführt (# 6). Das gewünschte Alkaloid **40** ist mit einer Rohausbeute von 19 % entstanden und es konnte erstmals das Massenspektrum dieses Alkaloids erhalten werden (s. Abb. A.9). Eine säulenchromatographische Reinigung war nicht möglich, da sich das Alka-

Tabelle 4.3: Versuchsbedingungen für die Synthese des Oxoalkaloides **40**

#	Alkohol	Bedingungen	Ergebnis
1	Retronecin	CDI, RT, 15 min*	unübersichtliches Gemisch
2	Retronecin	CDI, RT, 15 min*	unübersichtliches Gemisch
3	Methanol	CDI, RT, 15 min*	Methylester Nebenprodukt
4	Methanol	CDI, RT, 3 h*	kaum noch Methylester
5	Methanol	DCC, 0 °C, 4 h	Methylester als Hauptprodukt
6	Retronecin	DCC, RT, 24 h	nach SC kein Produkt erhalten
7	Retronecin	DCC, RT, 24 h	keine Reaktion
8	Methanol	EDC, 0 °C, 4 h	Methylester als Hauptprodukt
9	Retronecin	EDC, 0 °C, 4 h	Rohprodukt in Spuren
10	Retronecin	CDI, DMF, Imidazoylnatrium, RT, 24 h	keine Reaktion

\* Zeit für die Aktivierung der Säure durch CDI

loid anscheinend während dessen zersetzt hat. Eine Wiederholung der Reaktion unter denselben Bedingungen lieferte keine Produkte (# 7).

In einer nächsten Reaktion wurde getestet, ob 1-Ethyl-3-(dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC) als Aktivierungsmittel für die Säure besser geeignet ist. Nach einer Testreaktion mit Methanol wurde der Methylester erhalten (# 8). Die anschließende Reaktion mit Retronecin lieferte eine schlechte Ausbeute von 5 % **40** (# 9). Nach der Vorschrift von Zalkow et al. wurde die 2-Oxovaleriansäure (**37**) mit CDI in DMF aktiviert und dann mit Retronecin (**22**) und Imidazoylnatrium als Coreagenz umgesetzt [64]. Allerdings fand erneut keine Reaktion statt (# 10).

Nachdem die Versuche mit Kopplungsreagenzien nicht erfolgreich verliefen, wurde die Veresterung über das Säurechlorid versucht. Dazu wurde zuerst die Säure **37** mit Oxalylchlorid in das Säurechlorid überführt. Dieses sollte anschließend mit Retronecin verestert werden. Das Rohchlorid wurde ohne weitere Reinigung direkt mit Retronecin unter Anwesenheit von Triethylamin als Base umgesetzt, allerdings ohne Erfolg.

In einer nächsten Reaktionssequenz sollte die 2-Carbonylgruppe geschützt werden, um eventuell störende Einflüsse dieser Gruppe auf die Veresterung zu verhindern. Die Car-

boxylgruppe wird mit Diazomethan verestert, um bei der Acetalisierung eine Reaktion mit dem Ethylenglykol zu vermeiden. Chan et al. haben gezeigt, dass Trimethylchlor-silan bei der Acetalisierung von Carbonylgruppen einerseits ein effektiver Katalysator ist und auf der anderen Seite auch gleichzeitig als Dehydratisierungsmittel wirkt [65]. Speziell für die Acetalisierung von kleinen Mengen an Carbonylverbindung ist diese Methode gegenüber anderen Arten der Entfernung des Reaktionswasser, wie z.B. Molsieb oder Wasserabscheider von Vorteil.

Da mehrere Versuche der Acetalisierung der Carbonylgruppe nicht erfolgreich verliefen wurde diese alternativ als Enolsilylether geschützt. Die selektive Spaltung des Methyl-esters mit Kaliumtrimethylsilanoat lieferte keine befriedigenden Ergebnisse.

## 4.4 Diskussion

*Estigmene acrea* ist in der Lage PA der verschiedensten Strukturtypen aufzunehmen, zu entgiften und anzureichern. In der Hauptsache haben diese Alkaloide Retronecin als Necinbase, aber auch Alkaloide mit Heliotridin oder Platynecin als Necinbasen werden metabolisiert. Der Necinsäurerest zeigt eine starke Variabilität und reicht von Makrozyklen bis zu Di- und Monoester.

Die von den Tieren aufgenommen Alkaloide werden wie folgt metabolisiert: a) Bildung von eigenen Alkaloiden durch Hydrolyse der Estergruppen und Veresterung der freigesetzten Necinbase mit Säuren aus dem eigenen Stoffwechsel. b) Bildung des männlichen Sexualpheromones Hydroxydanaidal. Wird in Fütterungsexperimenten nur Retronecin angeboten, so wird dieses von den Tieren in die Creatonotine umgewandelt. Wird Creatonotin B an die Larven verfüttert, so wird dieses ebenfalls zu einem Teil hydrolysiert. Das dabei freiwerdende Retronecin wird zu Creatonotin A und den entsprechenden Isocreatonotinen A und B verestert. Die erwachsenen Weibchen bilden zusätzlich Platyphorine. Bei der Metabolisierung von Creatonotin B spielt die Stereochemie des Creatonotins anscheinend keine Rolle. Die Anteile der Metaboliten sind bei der Verfütterung von (2'S,3'S)-Creatonotin B in derselben Größenordnung wie bei der Verfütterung von (2'R,3'R)-Creatonotin B.

Über die Ursachen für die geringe Stereoselektivität von Creatonotin B bei *E. acrea* können bisher keine gesicherten Aussagen getroffen werden. Eine Möglichkeit könnte zu-

nächst eine stereoselektive Synthese der Alkaloide mit 2'*S* oder 2'*R*-Konfiguration sein, an der sich dann eine Epimerisierung am C-2' anschließt. Ein Argument dafür ist die Umwandlung von PA des Lycopsamin-Typs durch Bärenspinner. Die Necinsäure dieser Alkaloide ist 2,3-Dihydroxy-2-isopropylbutansäure. Beim Transfer vom Larven- zum Puppenstadium können die Lycopsamin-PA zwei Epimerisierungen durchlaufen. Dabei werden PA's mit (*S*)-Konfiguration an C-7 (Necinbaserest) und (*R*)-Konfiguration an C-3' (Necinsäurerest) invertiert [63, 67, 68].

Eine direkte Umwandlung von Retronecin in Hydroxydanaidal erscheint unwahrscheinlich, da die Biosynthese von Hydroxydanaidal erst im späten Puppenstadium beginnt, und zu diesem Zeitpunkt sind nur sehr kleine Mengen von freiem Retronecin verfügbar. In den Puppenstadien von *C. transiens* wurden neben dem Hydroxydanaidal nicht stabile Pyrrolester gefunden, was ein Hinweis darauf ist, dass die Aromatisierung von Retronecin in veresterter Form stattfindet [56]. Schließlich ist bei der Entwicklung von der Puppe zum erwachsenen Tier ein Verlust an Creatonotin bei den männlichen Tieren feststellbar [66]. Das weist darauf hin, dass die Creatonotine die Vorstufen für die Bildung des Hydroxydanaidals sind. Ob sie darüber hinaus noch andere Funktionen haben, ist bisher nicht näher bekannt. Es gibt Theorien, dass die Creatonotine dazu dienen von den Larven aufgenommene PA, die nicht direkt in spätere Entwicklungsstadien übertragen werden können, in eine übertragbare Form umzuwandeln [62].

Die Bildung von Hydroxydanaidal ist nicht nur auf Alkaloide mit ungesättigten Necinbasen beschränkt. Auch die gesättigten Platynecinderivate wie z.B. Sarracin sind Vorstufen. Wurden Larven Platynecin-haltige Alkaloide verabreicht, enthielten die erwachsenen Tiere von *E. acrea* nur 1,2-Dihydrocreatonotine. Das bedeutet, dass die Platynecinalkaloide zum Platynecin hydrolysiert werden und dieses zu den Dihydrocreatonotinen verestert wird. Diese werden dann zum Hydroxydanaidal umgewandelt [62]. Phalaenopsin-Typ Alkaloide besitzen kein Hydroxygruppe am C-7. Sie werden von *E. acrea* zwar in die Creatonotin analogen Verbindungen umgewandelt, sind aber keine Vorstufen für Hydroxydanaidal. Das zeigt, dass *E. acrea* nicht in der Lage ist diese Verbindungen an C-7 zu hydroxylieren.

Larven von *E. acrea* nehmen die vielfältigen PA's auf und behalten diese über die ganzen Entwicklungsstufen. Das aus ihnen gebildete Hydroxydanaidal wird über die Coremata abgegeben, und die Männchen werben auf diese Weise mit ihrem Alkaloidgehalt.

Je höher der Alkaloidgehalt ist, desto größer sind auch die Coremata der Männchen [69]. Bei der Besamung überträgt das Männchen einen großen Teil seiner Alkaloidladung auf das Weibchen. Das Weibchen überträgt bei der Eiablage diese Alkaloide zusammen mit einem Teil der eigenen Alkaloidladung auf die Eier.

In dem Habitat von *E. acrea* sind PA-haltige Pflanzen wie *C. pumila* und *S. longilobus* nicht sehr weit verbreitet. Sie müssen von den umherziehenden Larven gefunden werden. Durch die geringe Verbreitung dieser Pflanzen ist es möglich, dass einige Individuen während ihrer Entwicklung niemals auf solche Pflanzen treffen und daher auch keine Alkaloide enthalten. Die Werbung mit dem Alkaloidgehalt über das Hydroxydanaidal hat für Weibchen, die keine Alkaloide enthalten den Vorteil, dass sie auf diese Weise ein Männchen mit Alkaloiden finden können. Bei der Paarung werden sie dann mit Alkaloiden für sich und ihre Eier versorgt.



## 5 Zucker als Hochzeitsgeschenk

### 5.1 Einleitung

Bei den Insekten umfassen Hochzeitsgeschenke alle Formen des Transfers von Nahrung vom Männchen zum Weibchen vor oder während der Paarung. Die Art der Hochzeitsgeschenke kann unterschiedlich sein und umfasst vom Männchen gesammelte Nahrung, Teile oder den kompletten Körper des Männchens, Drüsensekrete wie Speichel, Spermatophore oder Substanzen im Ejakulat. Die Hochzeitsgeschenke werden unterschieden in väterliche Investition (paternal investment) oder Paarungsbemühung (mating effort). Nach Trivers [70] versteht man unter elterlicher Investition jede Investition von den Eltern in ihre Nachkommen, die dessen Überlebenschancen erhöhen, auf Kosten der elterlichen Fähigkeiten in weiteren Nachwuchs zu investieren. Dagegen wird unter der Paarungsbemühung der Anteil am Reproduktionsaufwand verstanden, der aufgebracht wird, um Mitglieder des anderen Geschlechts mit dem Ziel der Paarung zu finden. Die Trennung zwischen diesen beiden Ansätzen ist nicht immer leicht möglich. So können z.B. vom Männchen gelieferte Nährstoffe in die Eier einfließen oder die Fruchtbarkeit des Weibchens erhöhen. In diesem Falle wäre dies konform mit der Definition für die väterliche bzw. elterliche Investition. Allerdings widerspricht dies nicht notwendigerweise der Definition für die Paarungsbemühung.

Das Ziel des Männchens ist das Weibchen zur Paarung anzuwerben und/oder diese zu ermöglichen. Andererseits dienen die Hochzeitsgeschenke auch dazu, die Paarung zu verlängern und dadurch den Transfer des Spermas zu maximieren. Ein maximaler Ejakulattransfer hat für das Männchen den Vorteil, dass das Sperma von Konkurrenten verdünnt wird, wenn sich das Weibchen im Vorfeld mit anderen Männchen gepaart hat. Dadurch steigt die Anzahl der vom Männchen befruchteten Eier und damit die Chancen, dass die männlichen Gene in den Nachkommen weiterleben. Indirekt wirkt sich

ein großer Ejakulattransfer auf die Spermienkonkurrenz aus, in dem die Refraktärphase des Weibchens nach der Paarung verlängert wird. Dadurch dauert es längere Zeit, bis sich das Weibchen wieder paart. In dieser Zeit werden die Eier mit dem Sperma des Männchens befruchtet.

Über die Motten der Art *Eucereon varium* (Abb. 5.1) ist nicht viel bekannt. Sie gehören zur Ordnung der Schmetterlinge und zur Familie Arctiidae. Die Unterfamilie ist Ctenuchinae. Die Männchen besitzen spezielle Schuppen an den Beinen, sog. Zuckerschuppen (sugar scales), über die sie bei der Paarung Nährstoffe auf die Weibchen übertragen. Die Zusammensetzung dieser Nährstoffe sollte im Rahmen dieser Arbeit bestimmt werden.

## 5.2 Extrakt von *Eucereon varium*



Abbildung 5.1: Erwachsene Motte von *Eucereon varium*<sup>[71]</sup>

Der Extrakt von *E. varium* wurde von Prof. Dr. Michael Boppré von der Universität Freiburg gewonnen. Dazu wurden die Schuppen (Androconia) der männlichen Tiere mit D<sub>2</sub>O extrahiert. Nach Erhalt der Probe wurde ein Teil davon mit MSTFA bzw. MSTFA/TMSCl 10:1 derivatisiert und gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht. In Abb. 5.2 ist das Totalionenchromatogramm dieser Probe dargestellt.

Der Extrakt besteht hauptsächlich aus Kohlenhydraten. Die Hauptkomponenten bilden Glucose und eine unbekannte Verbindung. Das Massenspektrum dieser Verbindung ist in Abb. 5.3 gezeigt. Die charakteristischen Fragmente von  $m/z = 207$ ,  $217$  und  $361$  lassen darauf schließen, dass es sich bei der unbekannten Verbindung wahrscheinlich um ein Disaccharid handelt. Durch die Anomere von Kohlenhydraten besteht bei der Analyse immer die Gefahr, dass ein Anomer eines Zuckers mit einem anderen verwandten Zucker verwechselt wird. Außerdem lassen sich viele Monosaccharide nicht zweifelsfrei mittels GC-MS unterscheiden. Beispielsweise sind die Massenspektren der Hexosen Glucose, Galactose, Mannose und Talose nahezu identisch.

Ein Teil der Naturprobe wurde zusätzlich mit ESI-MS untersucht um Hinweise auf die elementare Zusammensetzung der unbekannten Verbindung zu erhalten. Bei positiver Ionisation gab es zwei starke Peaks bei  $m/z = 203$  und  $m/z = 365$ . Diese Peaks sind die Natriumaddukte der Ionen mit den Massen  $m/z = 180$  und  $m/z = 342$ . Dies sind die molaren Massen von Glucose und der unbekannten Verbindung.

Neben den beiden Hauptkomponenten liegt in dem Extrakt als Nebenkomponekte Glukonsäure vor, die durch Spektrenvergleich mit der NIST-Spektrendatenbank identifiziert werden konnte.

## 5.3 Strukturaufklärung

### 5.3.1 Allgemeine Vorgehensweise

Die Struktur eines Oligo- oder Polysaccharides wird durch die folgenden Parameter bestimmt [72]: 1. Anzahl und Natur der Monosaccharide, aus denen das Oligo- oder Polysaccharid aufgebaut ist, 2. Sequenz dieser Monosaccharide, 3. Ringgröße der Monosaccharide, 4. Position der glykosidischen Bindung, 5. Konfiguration dieser Bindung und 6. Konfiguration des anomeren Kohlenstoffatoms am reduzierenden Ende.

Für die Analyse von Kohlenhydraten hat sich neben der NMR-Spektroskopie die GC-MS als ein nützliches Instrument erwiesen. Wird die GC-MS als Analysemethode genutzt, erfolgt in der Regel zunächst eine Hydrolyse oder Methanolyse des zu untersuchenden Zuckers. Die Hydrolyse führt zur Spaltung der glykosidischen Bindung durch Säuren und es entsteht ein Monosaccharidgemisch. Dieses wird dann mittels GC-MS untersucht. Um flüchtige Verbindungen zu erhalten, müssen die Monosaccharide vor dem Einspritzen derivatisiert werden. Dafür stehen gängige Methoden wie zum Beispiel die Pertrimethylsilylierung mittels MSTFA oder die Peracetylierung mit Acetanhydrid zur Verfügung [73].

Die Bedingungen für die vollständige Hydrolyse eines Oligosaccharides müssen für jede Probe unter Berücksichtigung der Stabilität der Monosaccharide angepasst werden. Ein guter Ausgangspunkt ist die Hydrolyse mit 0,25 mol/l Schwefelsäure für 17 h bei 100 °C [74]. Aber auch 0,5 M Trifluoressigsäure (19h, 100 °C) oder 4 M Trifluoressig-

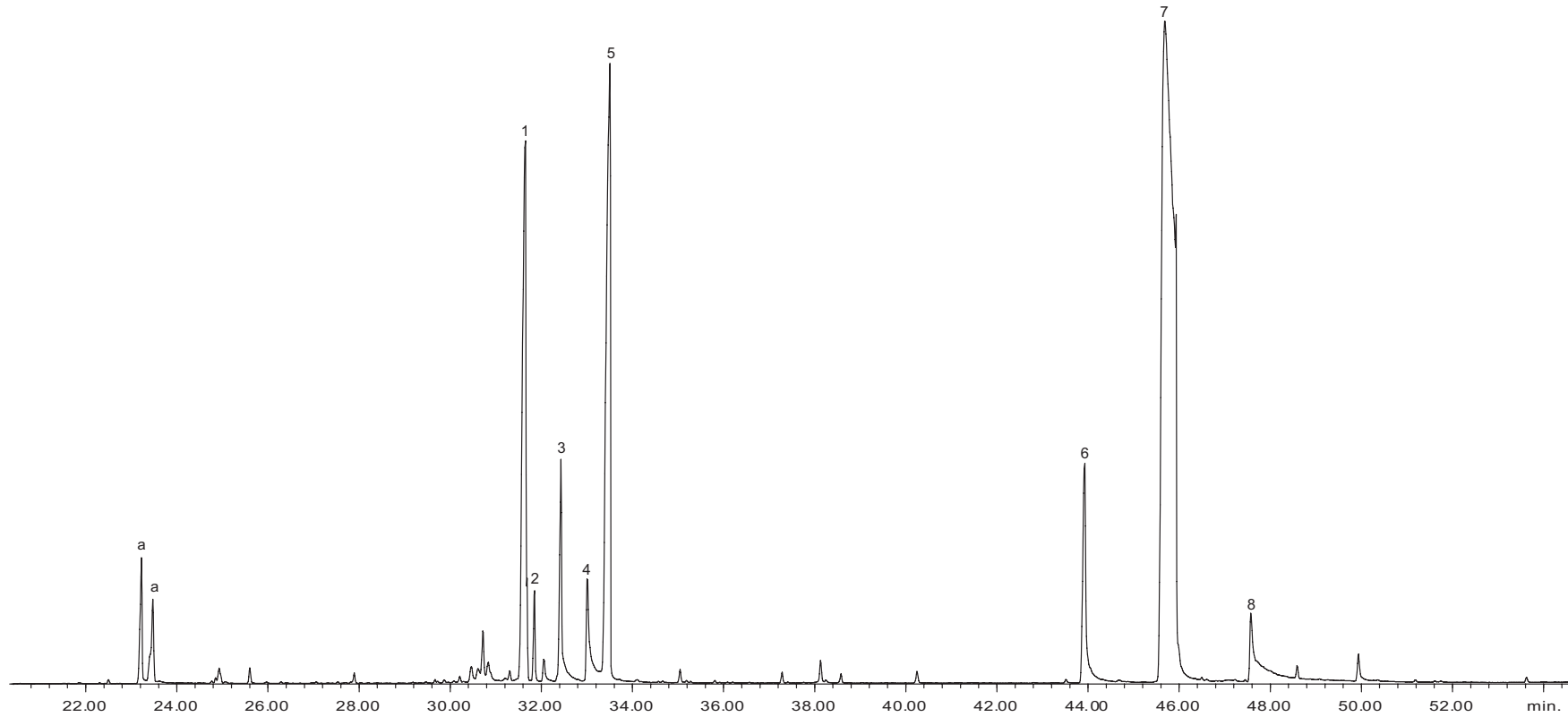


Abbildung 5.2: Totalionenchromatogramm eines wässrigen Extrakts der Schuppen von *Eucereon varium* (MSTFA-Derivat).

1) Glucopyranose, 2) Gluconsäure, 3) Glucose (offenkettig), 4) Xylose (?), 5) Glucopyranose, 6) Isomer von 7), 7) unbekannte Verbindung, 8) Isomer von 7), a) Artefakt

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

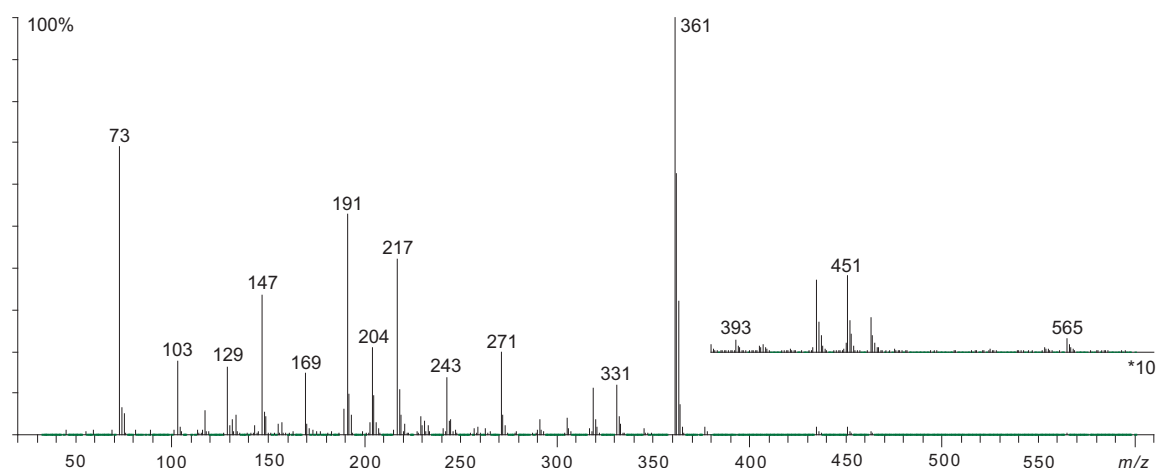


Abbildung 5.3: Massenspektrum des unbekannten Glykosides

säure (4h, 100 °C) sind gut geeignete Reagenzien für die Spaltung der glykosidischen Bindungen [75, 76]. Eine andere sehr gute Möglichkeit zur Hydrolyse stellen die Kationenaustauscher dar. Diese haben den Vorteil, dass die säurekatalysierte Zersetzung der Monosaccharide minimiert und die Hydrolyseeffektivität erhöht wird [77]. Außerdem kann der Ionenaustauscher sehr leicht abgetrennt und nach der Regenerierung wieder verwendet werden.

Monosaccharide haben bei der Analyse den Nachteil, dass in Lösung ein Gleichgewicht zwischen der offenkettigen Form und der Furanose bzw. Pyranose besteht. Da sowohl für die Furanoseform als auch die Pyranoseform die  $\alpha$ - oder  $\beta$ - Konfiguration möglich ist, ergeben sich zusammen mit der offenkettigen Form bis zu 5 Isomere, die nebeneinander vorliegen können. Sind mehrere Monosaccharide in der Lösung anwesend, wird ein Gaschromatogramm schnell sehr unübersichtlich. Dieses Problem kann durch geeignete Derivatisierung umgegangen werden. Am gebräuchlichsten ist dabei die Reduktion des Zuckers zu dem entsprechenden Alkohol, der nur in der offenkettigen Form vorliegen kann. Dadurch wird nur ein Peak im Gaschromatogramm erhalten. Diese Zuckeralkohole werden anschließend entweder mit MSTFA oder Acetanhydrid oder anderen gängigen Reagenzien derivatisiert und mit GC-MS untersucht.

Neben der Hydrolyse besteht auch die Möglichkeit Oligosaccharide durch Methanolyse zu spalten und in die entsprechenden Methylglycoside zu überführen. Die Methanolyse wird für gewöhnlich mit 1 N salzsaurem Methanol für 24 h bei 85 °C durchgeführt. Die entstandenen Methylglycoside werden nach der Derivatisierung analysiert. Die Methanolyse hat den Vorteil, dass sie schonender als die Hydrolyse ist und dadurch eine

geringere Zersetzung der Monosaccharide verursacht [78]. In Abb. 5.4 ist das allgemeine Vorgehen bei der Analyse von Kohlenhydraten zusammengefasst.

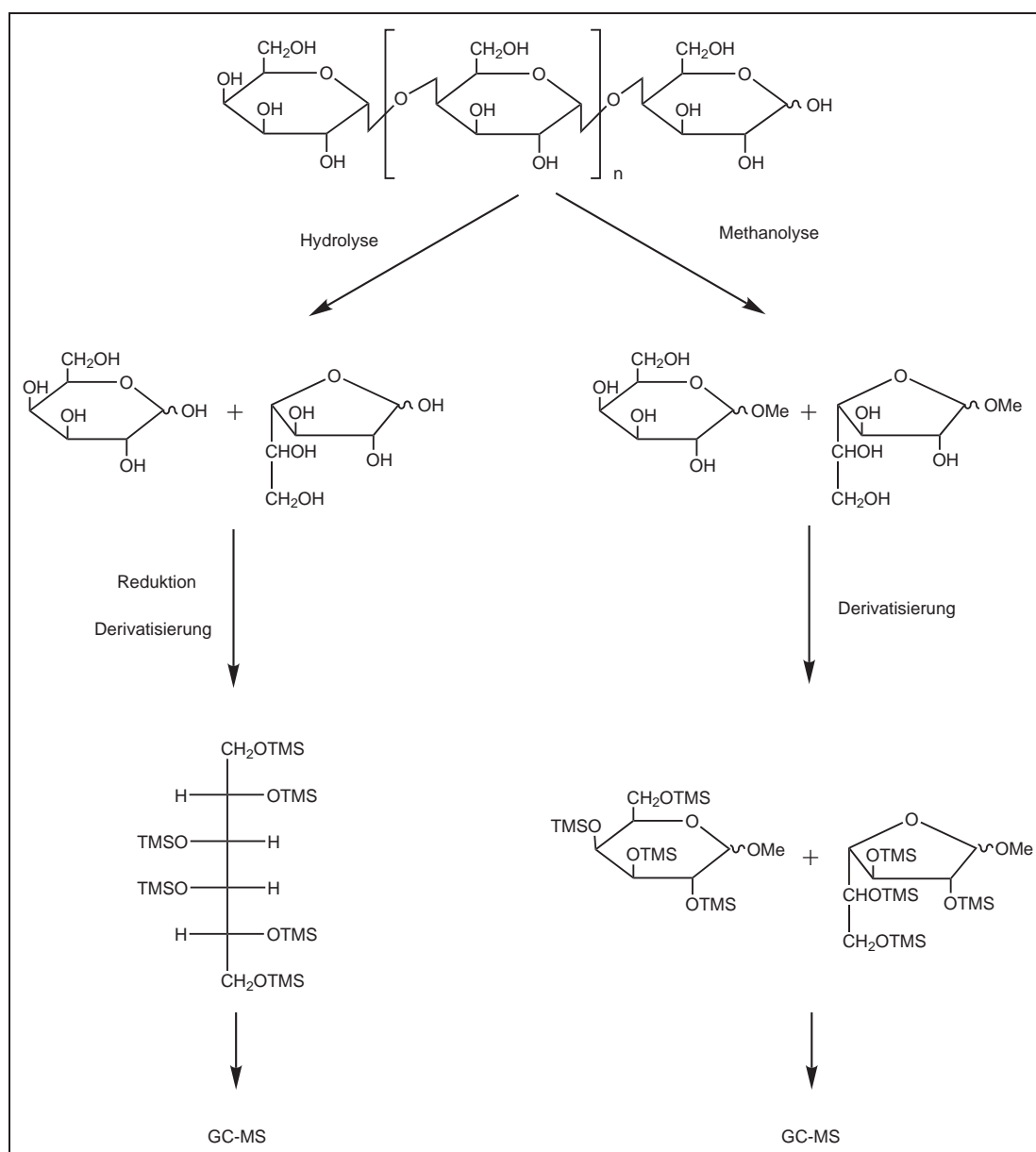


Abbildung 5.4: Schematische Darstellung der Hydrolyse bzw. Methanolyse und Analyse eines Oligosaccharides

### 5.3.2 Ermittlung der Hydrolyseparameter

Bei der Hydrolyse machen Ketosen Probleme, da sie sehr schnell abgebaut werden. Um sie bei der Analyse nicht zu übersehen, müssen die Hydrolysebedingungen sehr mild sein. Vor der Hydrolyse der Naturprobe wurden die optimalen Hydrolysebedingungen

mit Saccharose als Modells substanz ermittelt. Dieser Zucker enthält eine Ketose und ist kostengünstig. Auf diese Weise sollte sichergestellt werden, dass Ketosen, die eventuell in der Naturprobe enthalten sind, nicht abgebaut werden.

### Methanolyse

Die Abb. 5.5 zeigt die Reaktionsgleichung für die Methanolyse von Saccharose (**41**). Durch die Einwirkung von salzsaurem Methanol wird die Saccharose dabei in Methylglucose (**42**) und Methylfructose (**43**) gespalten. Salzsaures Methanol wird durch

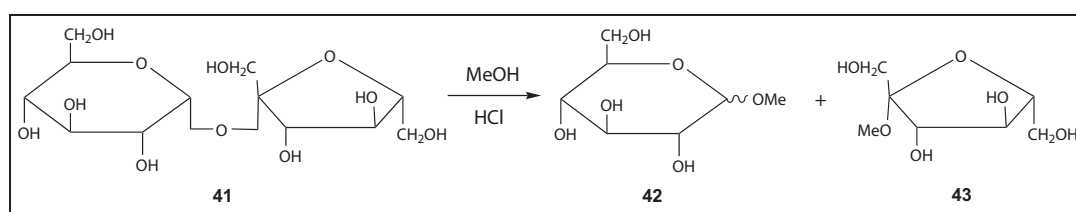


Abbildung 5.5: Methanolyse von Saccharose

Einleiten von HCl-Gas in trockenes Methanol hergestellt.

Nach der Methode von Chambers [78] wird eine kleine Menge Saccharose in frisch hergestelltem MeOH/HCl gelöst und das verschlossene Gläschen wird ca. 24 h bei 85 °C stehen gelassen. Nach einer Mikroaufarbeitung werden die Methylglycoside mit MST-FA derivatisiert und mit GC-MS untersucht. Ein besonderes Augenmerk liegt dabei bei dem Gehalt von Fructose im Gemisch der Methylglycoside. In Tab. 5.1 sind die Reaktionsbedingungen der Versuche zur Methanolyse von Saccharose aufgeführt und in Abb. 5.6 sind Ausschnitte aus den Totalionenchromatogrammen der einzelnen Methanolyseversuche dargestellt. In diesen Totalionenchromatogrammen wurde nur der Bereich der Monosaccharide berücksichtigt.

Tabelle 5.1: Versuchsbedingungen für die Methanolyse von Saccharose

Versuch	Zeit	Temperatur	Ergebnis der Methanolyse
M1	24 h	85 °C	keine Fructose
M2	24 h	RT	Fructose und Methylfructose
M3	20 h	60 °C	wie M2, geringerer Fructosegehalt
M4	24 h	75 °C	wenig Fructose

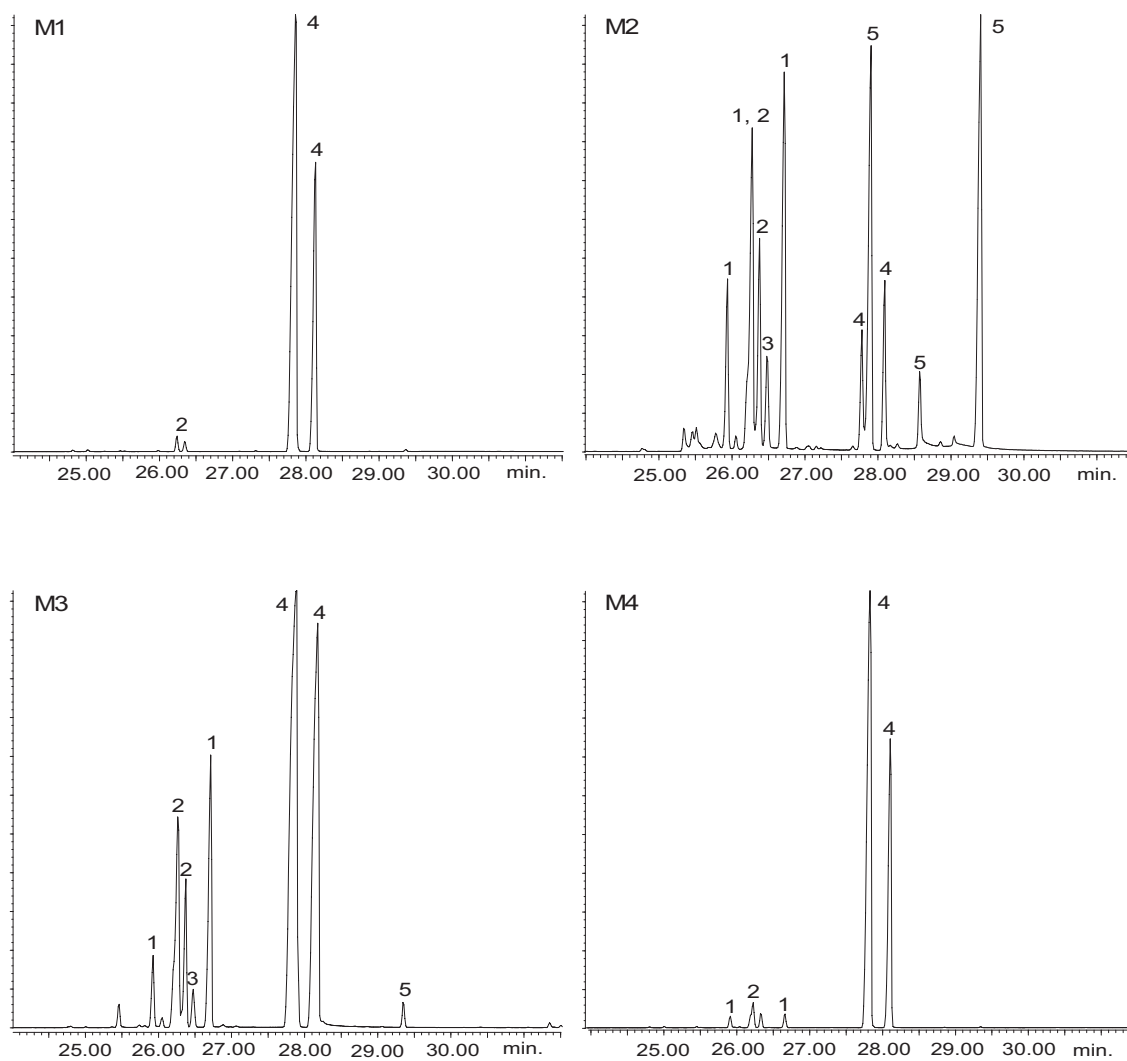


Abbildung 5.6: Ausschnitte aus den Totalionenchromatogrammen der Methanolyse von Saccharose nach den Versuchen M1-M4. Es ist der Bereich der Monosaccharide gezeigt. Für die Versuchsbedingungen s. Tab 5.1 (BPX-5 fused silica Kapillare, 60 °C 5 min. isotherm, 10 °C/min auf 320 °C)

1) Methylfructose, 2) Glucose (Furanosid), 3) Fructose, 4) Methylglucose, 5) Glucose



Wie gut zu erkennen ist, waren die Standardbedingungen für die Methanolyse nicht mild genug um einen Abbau von Fructose zu verhindern. Im Versuch M1 konnte nach der Solvolyse keine Fructose mehr nachgewiesen werden.

Der nächste Versuch M2 wurde unter sehr milden Bedingungen durchgeführt. In diesem Fall fand noch keine Zersetzung der Fructose statt, allerdings war das Gaschromatogramm, da sowohl Fructose als auch Glucose in methylierter und unmethylierter Form vorlagen, sehr unübersichtlich. Zusätzlich dazu lagen die Monosaccharide noch in verschiedenen isomeren Formen vor, die nicht eingehender untersucht wurden. Ausserdem war die Umsetzung der Saccharose nicht vollständig.

Um einen möglichst vollständigen Abbau der Saccharose zu erhalten wurde der Versuch M3 bei 60 °C durchgeführt. Der Vergleich mit M2 zeigt, dass der Anteil an unmethylierter Glucose zugunsten der Methylglucose zurückgegangen ist. Ausserdem zeigt sich, dass die Methanolyse bei erhöhten Temperaturen eine Zersetzung der Fructose begünstigt, deren Anteil sich im Versuch M3 ebenfalls verringert hat. Für eine vollständige Umsetzung der Saccharose waren diese Bedingungen immer noch nicht ausreichend.

Eine vollständige Solvolyse des Disaccharides konnte im Versuch M4 beobachtet werden. Die harten Bedingungen dieses Versuches führten jedoch dazu, dass nur noch Spuren von Methylfructose nachgewiesen werden konnten. Ansonsten bildete Methylglucose die Hauptkomponente in diesem Versuch. Das Ergebnis von M4 ist fast identisch mit dem von M1.

Die wenigen Versuche ließen erkennen, dass die Methanolyse für die Aufspaltung von Sacchariden, die Ketosen enthalten nicht optimal geeignet ist. Um einen vollständigen Abbau des Kohlenhydrates zu erhalten müssen die Solvolysebedingungen relativ hart gewählt werden. Dies hat den Nachteil, dass die Ketosen bereits zersetzt werden. Bei einem unbekannten Naturstoff können auf diese Weise Ketosen im Oligo- oder Polysaccharid übersehen werden und die erhaltenen Informationen würden zu einem fehlerhaften Strukturvorschlag führen. Werden andererseits die Bedingungen zu mild gewählt, so kommt es unter Umständen zu einem unvollständigem Abbau des Saccharides. Ausserdem kann die Methylierung der resultierenden Monosaccharide nicht abgeschlossen sein, so dass neben den methylierten Einfachzuckern auch die unmethylierten vorliegen. Zusammen mit den isomeren Formen von Monosacchariden in Lösung ergeben sich sehr unübersichtliche Gaschromatogramme, deren Interpretation dann erschwert

oder unmöglich ist.

## Hydrolyse

Bei der Hydrolyse wird die glykosidische Bindung unter Einwirkung einer Säure gespalten. Saccharose (**41**) wird dabei in Glucose (**44**) und Fructose (**45**) zerlegt (Abb. 5.7). Um die Gaschromatogramme übersichtlicher zu gestalten, werden die entstehenden

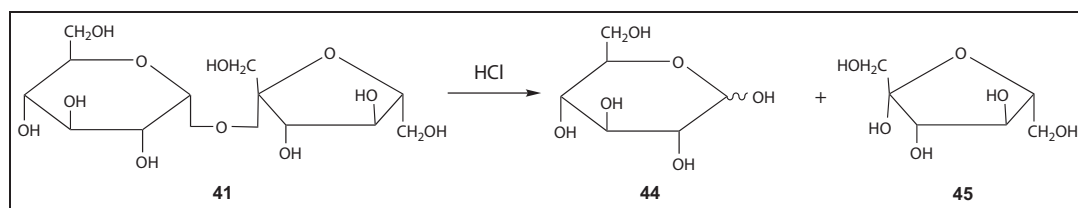


Abbildung 5.7: Hydrolyse von Saccharose

Monosaccharide vor der Derivatisierung mit MSTFA oder Acetanhydrid mit Natriumborhydrid in die entsprechenden Zuckeralkohole überführt.

In einem ersten Versuch wurde Saccharose mit 0,01 N Salzsäure bei 60 °C über Nacht hydrolysiert. Da bei der Reduktion von Fructose ebenfalls Glucitol entsteht, wurde die Probe nach Aufarbeitung und Derivatisierung direkt mit GC-MS untersucht, ohne vorherige Reduktion zu den Zuckeralkoholen. Unter diesen Versuchsbedingungen erfolgte schon ein beginnender Abbau der Fructose. Eine Verkürzung der Reaktionsdauer hielt den Fructoseabbau zwar in Grenzen, allerdings wurde die Saccharose dann nicht mehr vollständig umgesetzt.

Als nächstes wurde die Hydrolyse mit Ionenaustauscher getestet. Zur Solvolyse wurde eine verdünnte Saccharoselösung mit 100 mg Ionenaustauscher versetzt und über Nacht bei 75 °C stengelassen. Diese Bedingungen waren noch nicht mild genug, denn es konnte keine Fructose nachgewiesen werden. Es wurden nur die verschiedenen Isomere der Glucose gefunden.

Im nächsten Versuch wurde auf das Erwärmen der Probe verzichtet und die Hydrolyse bei Raumtemperatur durchgeführt. Nach einer Woche wurde der Ionenaustauscher entfernt und nach Entfernen des Wassers und der Derivatisierung wurde die Zusammensetzung der Probe mit GC-MS untersucht. Die Analyse zeigte, dass die Bedingungen in diesem Fall gut geeignet waren, um die freigesetzte Fructose nicht zu zersetzen. Auch wenn noch Spuren von nicht gespaltenen Saccharose nachgewiesen werden konnten,

wurde die Hydrolyse mit Ionenaustauscher bei Raumtemperatur für die Naturprobe verwendet.

### 5.3.3 Hydrolyse der Naturprobe

Mit den zuvor ermittelten Bedingungen (s. 5.3.2) wurde die Naturprobe hydrolytisch mit Ionenaustauscher bei Raumtemperatur gespalten. Vor der Hydrolyse wurde die Naturprobe nicht in Mono- und Disaccharide aufgetrennt, so dass ein Teil Glucose und Gluconsäure von Anfang an in der Probe vorhanden sind (s. 5.2). Ein Teil der Probenlösung wurde nach der Hydrolyse entnommen, nach Entfernen des Wassers derivatisiert und mittels GC-MS analysiert. Auf diese Weise wurde das Vorkommen von Ketosen untersucht, da nach einer Reduktion eine Unterscheidung zwischen Ketosen und Aldosen nicht mehr möglich ist. Das Totalionenchromatogramm der Hydrolyse der Naturprobe EUV-1 ist in Abb. 5.8 dargestellt. Es ist zu erkennen, dass in der hy-

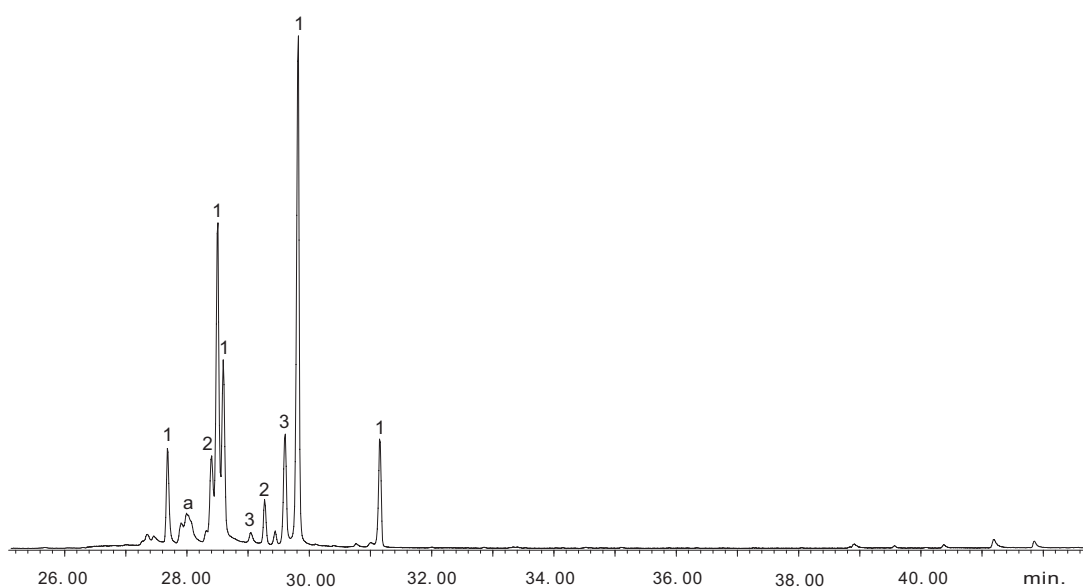


Abbildung 5.8: Gaschromatogramm nach der Hydrolyse der Naturprobe mit Ionenaustauscher (BPX-5 fused silica Kapillare, 60 °C 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C)  
1) Glucose, 2) Galactose (?), 3) Gluconsäure, a) Artefakt

drolysierten Probe nur noch Glucose und Gluconsäure auftreten. Da allerdings keine weiteren Monosaccharidpeaks hinzu gekommen sind, ist das ein Hinweis darauf, dass das unbekannte Disaccharid nur aus Glucoseeinheiten aufgebaut ist. Zur Überprüfung wurde ein anderer Teil der hydrolysierten Probenlösung mit  $\text{NaBH}_4$  reduziert, anschließend derivatisiert und analysiert. In Abb. 5.9 ist das Totalionenchromatogramm der

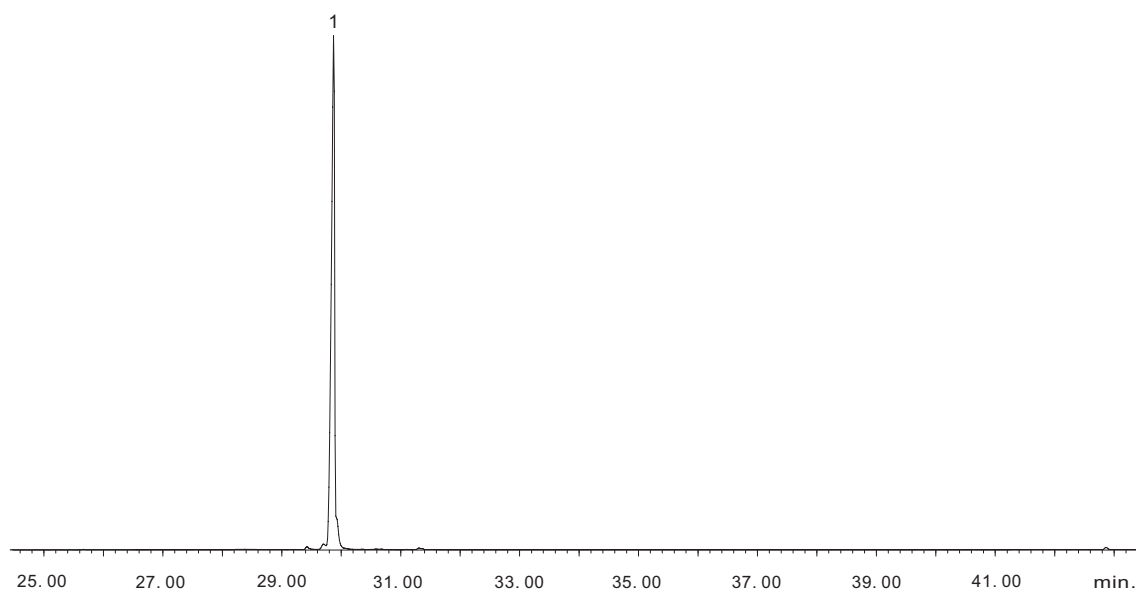


Abbildung 5.9: Gaschromatogramm der hydrolysierten und mit  $\text{NaBH}_4$  reduzierten Naturprobe EUV-1 (BPX-5 fused silica Kapillare, 60 °C 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C)

1) Glucitol

reduzierten Probenlösung dargestellt. Da nach der Reduktion nur noch Glucitol in der Probe enthalten ist, kann davon ausgegangen werden, dass das unbekannte Disaccharid aus zwei Glucoseeinheiten aufgebaut ist. Wäre noch ein anderes Monosaccharid am Aufbau des Disaccharides beteiligt, so wären im Gaschromatogramm auch zwei Peaks für zwei verschiedene Zuckeralkohole zu erwarten gewesen. Da dies jedoch nicht der Fall ist, besteht das Disaccharid aus zwei gleichen Monosacchariden. Jedoch muss berücksichtigt werden, dass die Reduktion von L-Gulose ebenfalls Glucitol liefert. Durch  $^1\text{H}$ -NMR Untersuchungen der hydrolysierten Probe konnte L-Gulose ausgeschlossen werden (s. 5.3.4).

Es muss allerdings noch untersucht werden ob es sich beim dem Zuckeralkohol wirklich um Glucitol handelt. Denn auch andere Aldohexosen ergeben Zuckeralkohole deren Massenspektren sich nicht von dem Spektrum des Glucitol unterscheiden. Daher ist auf die massenspektrometrischen Daten der GC-MS Analyse alleine kein Verlass. Eine Möglichkeit, die Zuckeralkohole voneinander zu unterscheiden, bietet bei Gaschromatographie der Vergleich der Retentionszeiten. Liegen die Retentionszeiten zu dicht beieinander um eine zweifelsfreie Zuordnung zu gewährleisten, bietet sich zusätzlich noch die Coinjektion an.

Von den gängigsten Monosacchariden Glucose, Mannose und Galactose wurde mit  $\text{NaBH}_4$  die entsprechenden Zuckeralkohole Glucitol, Mannitol und Galactitol hergestellt. Ihre Retentionszeiten wurden gaschromatographisch ermittelt und in Tab. 5.2 zusammengefasst. Die Retentionszeit des Zuckeralkohols aus der Naturprobe lag bei verschiedenen

Tabelle 5.2: Retentionszeiten der gängigen Zuckeralkohole

Zuckeralkohol	Retentionszeit
Glucitol	20,01
Galactitol	20,15
Mannitol	19,94

Messungen zwischen 19,97 und 20,05 min. und liegt damit im Bereich von Mannitol und Glucitol. Galactitol kann ausgeschlossen werden. Zur genauen Festlegung, ob der Zuckeralkohol in der Naturprobe wirklich Glucitol oder doch Mannitol ist, wurde die Coinjektion verwendet. Dazu wurde ein äquimolares Gemisch von Glucitol und Mannitol gaschromatographisch untersucht und anschließend dem Gemisch etwas von der hydrolysierten und reduzierten Naturprobe zugegeben. In Abb. 5.10 sind die entsprechenden Gaschromatogramme gezeigt. Die Retentionszeiten der beiden Monosaccha-

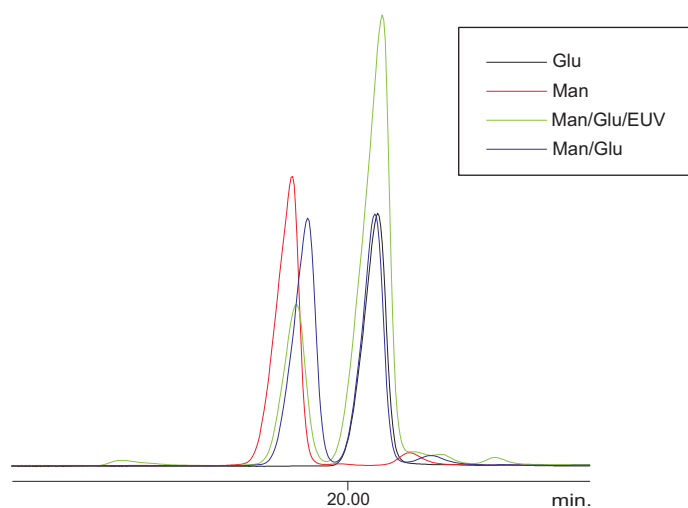


Abbildung 5.10: Coinjektion von Mannitol (Man), Glucitol (Glu) und der hydrolysierten, reduzierten Naturprobe (EUV) (BPX-5 fused silica Kapillare, 60 °C 5 min. isotherm, 10 °C/min auf 320 °C)

ride sind verschieden genug um im Gemisch (blaue Kurve) eine Grundlinientrennung

zu erreichen. Das nach der Zugabe der Naturprobe zum äquimolaren Gemisch von Mannitol/Glucitol aufgenommene Gaschromatogramm (grüne Kurve) zeigt einen Zuwachs der Peakfläche des Glucitols gegenüber dem Mannitol/Glucitol-Gemisch. Das beweist eindeutig, dass der Zuckeralkohol, der aus der Spaltung und anschließender Reduktion der Naturprobe resultiert Glucitol ist. Das bestärkt die Vermutung, dass das unbekannte Disaccharid ausschließlich aus zwei Glucoseeinheiten aufgebaut ist.

### 5.3.4 NMR-Spektroskopie

Die NMR-Spektroskopie ist neben der Analyse mit GC und GC-MS eine weitere gute Möglichkeit die Struktur von Sacchariden zu untersuchen. Den Nachteil der geringeren Sensitivität gegenüber GC-MS macht die NMR-Spektroskopie dadurch wett, dass mit ihr Proben nicht-destruktiv untersucht werden können. Der experimentelle Aufwand ist begrenzt und man kann schnell Informationen über die Reinheit und generelle Strukturinformationen erhalten. Im Idealfall gelingt es die Struktur des Kohlenhydrates nur durch NMR zu ermitteln. Nach Abdampfen des Lösungsmittels steht die Probe für andere Analysemethoden zur Verfügung.

Bei der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie liegen die wichtigen Signale, z.B. die der anomeren Protonen bei 4.3–5.9 ppm. Zusammen mit der vicinalen ( $^3J_{HH}$ ) Kopplung ergeben sich wichtige Informationen über die Primärstruktur. Die meisten Protonenresonanzen liegen im Bereich von 3.0–4.2 ppm. Dabei handelt es sich um die nicht-anomeren Methin- und Methylenprotonen, die in verschiedenen Monosacchariden eine ähnliche chemische Verschiebung aufweisen. Da im Gleichgewicht mehr als nur eine Form des reduzierenden Endes vorliegen kann, kommt es in diesem engen Spektralbereich zu einer starken Überlappung der Signale.

Für die Interpretation eines  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums sind einzeln stehende Resonanzen („structural reporter resonances“ [79]) gute Ausgangspunkte. Die chemische Verschiebung und die Kopplungskonstanten dieser Resonanzen erlauben wichtige Rückschlüsse auf die Struktur oder auf Teile der Struktur. Viele der „structural reporter resonances“ treten im Bereich von 4.2–5.3 ppm auf und stammen von den anomeren Protonen. Dabei sind die Signale von  $\alpha$ -Glycosiden um ca. 0.3–0.5 ppm tieffeldverschoben im Vergleich zu den  $\beta$ -Glycosiden. Dublett-Signale bei 4.8–5.3 ppm mit einer

Kopplungskonstante von ca. 1–4 Hz stammen von einem  $\alpha$ -Zucker, während Resonanzen im Bereich von 4.4–4.8 ppm und einer Kopplungskonstanten von 6–8 Hz auf einen  $\beta$ -Zucker schließen lassen.

Im Gegensatz zum unübersichtlichen  $^1\text{H}$ -NMR ist ein protonenentkoppeltes  $^{13}\text{C}$ -NMR gut aufgelöst und hat wenige sich überlappende Peaks. Dadurch wird eine Interpretation dieser Spektren vereinfacht. Allerdings ist es auf Grund ähnlicher chemischer Verschiebungen schwierig, einzelnen Kohlenstoffatomen eine chemische Verschiebung zuzuordnen. Die Resonanzen der anomeren Kohlenstoffatome treten im übersichtlichen Bereich von 90–112 ppm auf. Damit ist es möglich die Anzahl der O-verknüpften Monosaccharide in einem Oligosaccharid zu ermitteln. In einem  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum kann, im Gegensatz dazu, aus der Anzahl der anomeren Signale nicht auf die Anzahl der Monosaccharide geschlossen werden, da in diesem Bereich auch acylierte Methin- oder Methylengruppen von acylierten Oligosacchariden Resonanzen zeigen. Trotzdem bedarf es bei der Auswertung der anomeren Region im  $^{13}\text{C}$ -NMR besonderer Aufmerksamkeit, da symmetrische Oligosaccharide wegen der Überlappung von Signalen einfache Spektren liefern. Dadurch könnte eine geringere Monosaccharidanzahl vorge täuscht werden. Eindimensionale NMR-Methoden liefern auf Grund der Überlappung von vielen Signalen im Protonenspektrum nur limitierte Informationen für eine komplette Strukturaufklärung eines Oligosaccharides.

Durch zweidimensionale NMR Methoden können diese Probleme umgangen werden. Ein erster Schritt bei der Strukturaufklärung ist, herauszufinden welche Signale zu einem Spinsystem und damit auch zu einem Zuckerrest gehören. Da Zucker hauptsächlich aus einer Kette von koppelnden Spins bestehen, sind spinkorrelierte Methoden wie COSY gut geeignet um die Protonen, die zu einem Spinsystem gehören, zu identifizieren. Ausgehend von isolierten Resonanzen, z.B. den anomeren Signalen bei 4.3–5.4 ppm, werden die Spins von Proton zu Proton schrittweise bestimmt. In einer Aldohe- xose sind die Kopplungen einseitig, d.h. H-1 koppelt mit H-2, H-2 mit H-1 und H-3, H-3 koppelt mit H-2 und H-4 usw.. Auf diese Weise können die Protonen die zu einem Spinsystem gehören, zugeordnet werden.

Mitunter überlappen sich die Protonenresonanzen von Oligosacchariden in homonuclea- ren Korrelationen, so dass eine vollständige Interpretation nicht möglich ist. Eine Abhil- fe schaffen die heteronuklearen  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Korrelationen. Durch  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -Korrelationen

ist es möglich alle Spinsysteme und damit alle Monosaccharide eines Oligosaccharides zu identifizieren. Glycosylierung führt zu einer Veränderung der chemischen  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Verschiebung. Der Effekt, den die Glycosylierung verursacht, ist abhängig vom Verknüpfungstyp und an den Verknüpfungsstellen stärker als in der Nachbarschaft. Stehen für eine bestimmte Verknüpfung Vergleichswerte zur Verfügung, kann damit auf die Verknüpfung der Monosaccharidreste geschlossen werden. Je nach Verknüpfung können zwischen den Monosaccharideinheiten NOEs beobachtet werden, mit deren Hilfe auf die Verknüpfung geschlossen werden kann. HMBC Experimente liefern ebenfalls Informationen über die Verknüpfung [80].

In Abb. 5.11 ist das  $^1\text{H}$ -NMR der Naturprobe dargestellt. Gut zu erkennen sind die

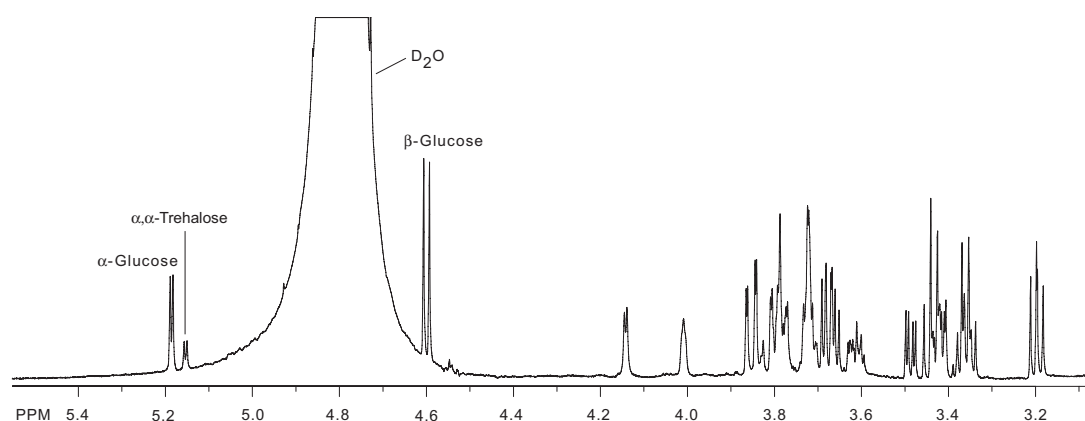


Abbildung 5.11: Ausschnitt aus dem 600 MHz  $^1\text{H}$ -NMR der Naturprobe. Lösungsmittel  $\text{D}_2\text{O}$ .

Resonanzen der „structural reporter group“ im Bereich von 4.6-5.2 ppm. Ein Vergleich mit dem NMR-Spektrum von Glucose zeigte, dass die Dubletts bei  $\delta = 5.19$  ppm ( $J = 3.7$  Hz) und  $\delta = 4.60$  ppm ( $J = 7.9$  Hz) die Signale der anomeren Protonen von  $\alpha$ -Glucose bzw.  $\beta$ -Glucose sind. Das Dublett bei  $\delta = 5.16$  ppm ( $J = 3.8$  Hz) gehört demnach zu dem unbekannten Disaccharid. Die chemische Verschiebung und die Kopplungskonstante deuten darauf hin, dass die glycosidische Bindung in diesem Disaccharid  $\alpha$ -konfiguriert ist.

In dem  $^{13}\text{C}$ -NMR konnten durch Vergleich mit dem NMR von Glucose sechs bis sieben Signale festgestellt werden, die von dem Disaccharid hervorgerufen werden. Diese für ein Disaccharid geringe Anzahl an Kohlenstoffatomen ist ein Hinweis darauf, dass das Disaccharid symmetrisch aufgebaut ist. Da das NMR-Spektrum der Naturprobe eine



Überlagerung der Spektren von  $\alpha$ -Glucose,  $\beta$ -Glucose und dem unbekannten Disaccharid ist, ist eine weitergehende Interpretation der Spektren nicht möglich. Daher konnte die Position der glycosidischen Bindung nicht aus dem NMR ermittelt werden.

In dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum der hydrolysierten Naturprobe ist das Dublett der Trehalose bei  $\delta = 5.16$  ppm nicht mehr nachweisbar. Lediglich die Dubletts der anomeren Protonen von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glucose sind noch vorhanden. Da nach der Hydrolyse keine weiteren Resonanzen nachweisbar sind, ist in dem Disaccharid keine L-Gulose enthalten.

### 5.3.5 Massenspektrometrie

Nach Kamerling et al. [72] ist es möglich die Position der glycosidischen Bindung eines Disaccharides, das ausschließlich aus Aldohexosen aufgebaut ist, anhand des Massenspektrums zu ermitteln. Dazu haben die Autoren die Massenspektren der TMS-Derivate von allen Substanzen der Art Aldohexosyl-(1 $\rightarrow$ x)-aldohexose mit  $x = 1-6$  untersucht. Wie für strukturell eng verwandte Verbindungen zu erwarten ist, sind die Massenspektren der untersuchten Disaccharide sehr ähnlich. Charakteristische Unterschiede im Fragmentierungsmuster sind auf die unterschiedliche Position der glycosidischen Bindung zurückzuführen. In der folgenden Tabelle (Tab. 5.3) sind einige charakteristische Peaks von Disacchariden mit unterschiedlichen Verknüpfungsmustern dargestellt. Es ist zu erkennen, dass sich die Massenspektren der 1 $\rightarrow$ 1-verknüpften Disaccharide

Tabelle 5.3: Intensitäten (%) charakteristischer Peaks der Aldohexosyl-(1 $\rightarrow$ x)-aldohexosen relativ zu  $m/z = 361$  als Basispeak, nach [72]

	1 $\rightarrow$ 1	1 $\rightarrow$ 2	1 $\rightarrow$ 3	1 $\rightarrow$ 4	1 $\rightarrow$ 5	1 $\rightarrow$ 6
$m/z$	$\alpha,\alpha$ -Trehalose	Kojibiose	Laminaribiose	Maltose	Maniocese	Isomaltose
539	0.2	1.3	10.1	6.0	2.5	2.7
540	1.2	0.8	6.1	2.6	1.4	1.5
553	2.2	-	-	-	-	-
565	1.6	-	-	-	-	-
569	0.1	6.7	10.9	4.6	28.1	23.4
583	0.4	0.5	0.4	0.7	29.3	22.2
668	0.1	6.2	0.6	2.4	0.4	0.9

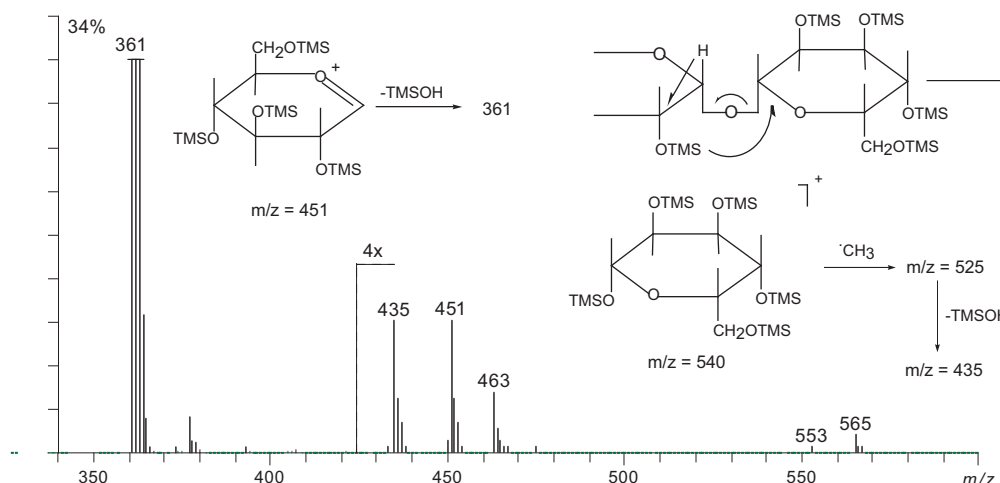


Abbildung 5.12: Ausschnitt aus dem Massenspektrum und Fragmentierungen der Naturprobe. Der Basispeak ist  $m/z = 361$ .

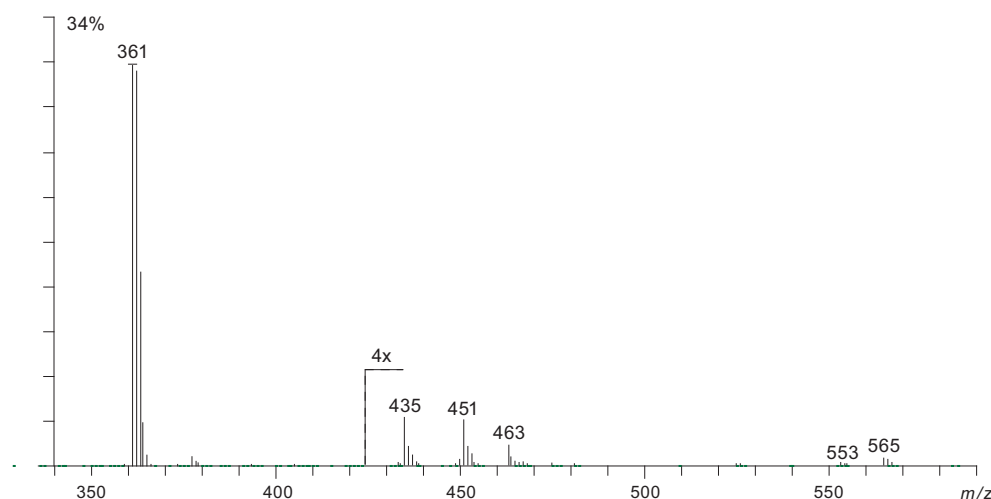


Abbildung 5.13: Ausschnitt aus dem Massenspektrum von  $\alpha,\alpha$ -Trehalose. Der Basispeak ist  $m/z = 361$ .

von den anderen Verknüpfungsarten durch die Anwesenheit von sehr kleinen Peaks bei  $m/z = 553$  und  $m/z = 565$  unterscheiden. Die Spektren der TMS-Derivate der 1 $\rightarrow$ 5- und 1 $\rightarrow$ 6- verknüpften Disaccharide lassen sich von den anderen durch starke Peaks bei  $m/z = 569$  und  $m/z = 583$  unterscheiden. Allerdings kann nicht zwischen diesen beiden Verknüpfungstypen unterschieden werden. Untereinander sehr ähnlich sind sich auch die Spektren der 1 $\rightarrow$ 2-, 1 $\rightarrow$ 3- und 1 $\rightarrow$ 4-Verknüpfung. Dennoch lässt sich mit Hilfe der Peakverhältnisse der Peaks  $m/z = 569$ ,  $m/z = 539$  und  $m/z = 569$ ,  $m/z = 668$  auf die Position der glycosidischen Bindung schließen [72].

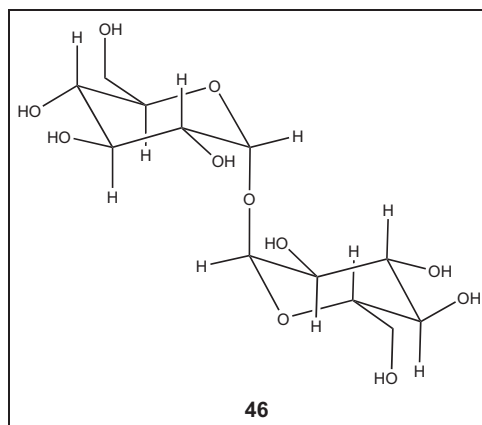
Ein Ausschnitt aus dem Massenspektrum der TMS-derivatisierten Naturprobe EUV-1

ist in Abb. 5.12 dargestellt. Diese Abbildung zeigt, dass in dem Massenspektrum von EUV-1 kleine Peaks bei  $m/z = 553$  und  $m/z = 565$  vorhanden sind. Nach [72] handelt es sich bei der Verbindung demnach um ein 1→1-verknüpftes Disaccharid und demnach um Trehalose. Aus dem NMR-Spektrum (s. 5.3.4) ist bekannt, dass die Konfiguration an dem anomeren Kohlenstoffatom  $\alpha$  ist. Daher ist der Naturstoff  $\alpha$ -Trehalose. Zum Vergleich ist in Abb. 5.13 ein Ausschnitt aus dem Massenspektrum von käuflicher  $\alpha$ -Trehalose gezeigt. Um sicher zu stellen, dass die charakteristischen Signale bei  $m/z = 553$  und  $m/z = 565$  keine Artefakte sind, die vom GC-MS-Gerät verursacht werden, wurde das Massenspektrum vom TMS-derivatisierter Maltose auf identische Weise aufgenommen. Bei der Auswertung wurde speziell der Massenbereich  $> 361$  untersucht. Es wurden mehrmals die Spektren von Maltose aufgezeichnet, aber in keinem der Massenspektren konnten Peaks bei  $m/z = 553$  und  $m/z = 565$  nachgewiesen werden. Daher kann davon ausgegangen werden, dass diese Signale keine zufälligen Artefakte sind. Die Intensitäten der beiden charakteristischen Peaks weichen etwas von denen in Tab. 5.3 ab. So ist in dem Spektrum der Naturprobe die Intensität des Peaks bei  $m/z = 565$  größer als die des Peaks bei  $m/z = 553$ . Diese Abweichungen werden zu einem bestimmten Grad auch vom Messgerät und der Messmethode hervorgerufen.

## 5.4 Diskussion

Die Männchen von *E. varium* übertragen bei der Paarung über spezielle Schuppen Nährstoffe an die Weibchen. Die Analyse eines wässrigen Extraktes dieser Schuppen hat gezeigt, dass es sich bei diesen „Hochzeitsgeschenken“ um Glucose, Gluconsäure und Trehalose handelt (Abb. 5.14). Trehalose (**46**) ist ein Disaccharid aus zwei  $\alpha$ -Glucoseeinheiten, die 1,1-verknüpft sind. Die  $\alpha,\beta$ - und  $\beta,\beta$ -Anomere spielen in der Natur keine Rolle [81]. In der Natur ist Trehalose weit verbreitet und tritt in Pflanzen, Algen, Pilzen, Hefen, Bakterien, Insekten und anderen wirbellosen Tieren auf [82]. Bei den Insekten ist Trehalose der Hauptzucker in der Hämolymphe [83] und in den Brustmuskeln [84].

Trehalose ist in Insekten ein Speicher für Glucose. Insekten besitzen einen offenen Kreislauf und die Organe sind in die Hämolymphe eingebettet. Da kein direkter Transport von Nährstoffen über Kapillaren zu den Zellen erfolgt, ist es erforderlich, dass die Kon-

Abbildung 5.14:  $\alpha,\alpha$ -Trehalose

zentration dieser Stoffe in der Hämolymphe entsprechend hoch ist, um eine ausreichende Versorgung zu gewährleisten. Aufgrund seiner reduzierenden Eigenschaften ist Glucose in hohen Konzentrationen relativ toxisch. Trehalose ist nichtreduzierend und kann daher in relativ hohen Konzentrationen in der Hämolymphe gespeichert werden. Bei Bedarf wird die Trehalose durch das Enzym Trehalase in Glucose gespalten, welche dann als Energiequelle, z.B. für das Fliegen zur Verfügung steht [84]. Darüber hinaus ist Trehalose eine Schutz- und Stabilisierungssubstanz für Proteine und Membrane. Die Bildung von Trehalose wird durch Stress wie Hitze, Trockenheit oder oxidativem Stress ausgelöst und die erhöhte Konzentration von Trehalose im Zytoplasma schützt die Proteine vor der stress-ausgelösten Denaturierung [81].

Gluconsäure ist in der Natur sehr weit verbreitet und entsteht beim physiologischen Abbau von Kohlenhydraten. Bei einigen Eurycotis-Arten ist sie Bestandteil des Abwehrsekrets [85].

## 6 2,4-Dihexadecylfuran in *Pseudaletia unipuncta*

### 6.1 Einleitung

In der belebten Natur spielen Wachse eine große Rolle. Unter Wachsen versteht man dabei im Allgemeinen ein Gemisch aus langkettigen unpolaren Verbindungen, die auf der Oberfläche von Tieren und Pflanzen gefunden werden können. Diese Oberflächenwachse haben bei Insekten vielfältige Funktionen. Wie auch bei Pflanzen schützen sie in erster Linie vor dem Austrocknen. Andererseits spielen sie auch im Paarungsverhalten von Insekten eine Rolle, in dem sie als „sex attractants“, „mating stimulants“ und „sex recognition chemicals“ fungieren. Daneben dienen die Wachse als Schutz vor Befall mit Mikroorganismen, als chemische Mimikry und sie spielen eine Rolle bei der Thermoregulation. Mit Hilfe ihres Wachsprofils können sich einige Tiere untereinander erkennen. Da die Zusammensetzung der kutikulären Wachse einer Art einzigartig ist, können die Wachse zur chemotaxonomischen Einordnung der Tiere genutzt werden [86].

Die Wachse von Insekten bestehen aus einer komplexen Mischung von langkettigen Verbindungen, die unverzweigte gesättigte und ungesättigte Kohlenwasserstoffe, methylverzweigte Kohlenwasserstoffe, Wachsester, Ketone, Aldehyde, Alkohole und Säuren einschließen.

Von allen Wachskomponenten sind die Kohlenwasserstoffe die am besten untersuchten und am weitesten verbreiteten Komponenten. Seitdem Schall 1892 Undecan in roten Ameisen und Étard Eicosan in der Zaunrübe *Bryonia dioica* identifiziert haben sind Alkane in Lebewesen bekannt [87, 88]. Seitdem wurden sie in allen bisher untersuchten natürlichen Materialien gefunden und es wird davon ausgegangen, dass Alkane in der Natur allgegenwärtig sind. Die Anteile von n-Alkanen sind dabei sehr variabel. Sie

reichen von 98 % in den Kutikulakohlenwasserstoffen des Schwarzkäfers *Eurychora* sp. bis zu Spuren in den Lipiden der Tsetsefliege [89, 90].

Neben den n-Alkanen sind die methylverzweigten Alkane häufige Komponenten in den Oberflächenlipiden von Insekten. Sie treten in einer strukturellen Vielfalt von mono- bis tetramethylverzweigten Alkanen auf, wobei mono- und dimethylverzweigte Alkane weit häufiger auftreten als die tri- und tetramethylverzweigten. Für gewöhnlich sind die Verzweigungspunkte durch drei Methylengruppen voneinander getrennt, allerdings wird auch ein Abstand von neun Methylengruppen häufig beobachtet. In einigen Fällen können auch 1, 5, 7, 11, 13 oder 17 Methylengruppen zwischen den Methylverzweigungen liegen [86]. Bei den trisubstituierten Alkanen liegen zwischen den Verzweigungspunkten häufig jeweils drei Methylengruppen, aber auch 3,5-, 5,3- und 7,3-Abstände wurden beobachtet [90].

Neben den gesättigten Kohlenwasserstoffen, die auch in den meisten Fällen die Hauptkomponenten von Insektenwachsen sind, treten auch ungesättigte Kohlenwasserstoffe auf. Am gängigsten sind dabei n-Alkene. In einigen Fällen bilden jedoch Diene die Hauptkomponenten unter den ungesättigten Kohlenwasserstoffen. So sind z.B. in der Schabe *Periplaneta americana* (Z,Z)-6,9-Heptacosadien und in der weiblichen Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* 7,11-Heptacosadien die Hauptkomponenten der jeweiligen Oberflächenwachse [91, 92]. Bei *Drosophila virilis* haben Diene einen Anteil von 22 % an den Oberflächenlipiden und die drei Komponenten (Z,Z)-5,13- und (Z,Z)-5,15-Pentacosadien und (Z,Z)-7,15-Heptacosadien wirken als Additive für das Sexpheromon (Z)-11-Pentacosen [93]. In den Insektenwachsen sind ebenfalls langkettige methylverzweigte Alkene nachgewiesen worden, doch wurden diese nicht so genau wie die methylverzweigten Alkane untersucht. Beispiele sind 13-Methylhentriacont-1-en und 13-Methyltritriacont-1-en in den Lipiden der Gemeinen Stechfliege *Stomoxys calcitrans* oder 19,23-Dimethyltritriacont-1-en in der Tsetsefliege *Glossina morsitans submorsitans* [94, 95].

In der taxonomischen Einordnung gehört *Pseudaletia unipuncta* zur Ordnung Lepidoptera, Familie Noctuidae, Unterfamilie Hadeninae, Gattung *Pseudaletia*. *P. unipuncta* (Abb. 6.1) ist in Nordamerika heimisch. Dort kommt sie in den Regionen östlich der Rocky Mountains bis in den Süden von Kanada vor. Die Larven von *P. unipuncta*

stellen in der Landwirtschaft ein ernst zunehmendes Problem dar, da innerhalb kurzer Zeit erheblicher Schaden an Feldern verursacht werden kann. Die Tiere fallen dabei wie eine Armee über die Pflanzen her und nachdem diese kahl gefressen sind, zieht der ganze Trupp weiter zur nächsten Nahrungsquelle. Dieses armee-artige Auftreten führte auch zu der Bezeichnung „Armyworm“ für die Larven von *P. unipuncta*. Als Nahrungsquellen dient in erster Linie Getreide, aber auch Gemüse. Die erwachsenen



Abbildung 6.1: Larve (links) und Motte (rechts) von *Pseudaletia unipuncta*<sup>[96]</sup>

Motten sind rötlich bräunlich gefärbt mit einer Flügelspannweite von ca. 40 mm. Erwachsene Weibchen legen die Eier in Clustern auf geschützte Stellen ab, z.B. zwischen Blattscheide und -spreite in den Blättern ihrer Wirtspflanzen. Die Eier sind weiß oder gelblich, ändert sich aber direkt vor dem Schlüpfen zu grau. Nach 3,5 bis 6,5 Tagen schlüpfen die Eier. Die Dauer des Eistadiums ist abhängig von der Temperatur. Die Larven durchlaufen normalerweise 6 Larvenstadien, allerdings wurden auch schon bis zu 9 beobachtet. Die Größe der Larven nimmt von 4 mm im 1. Larvenstadium auf 35 mm im 6. Stadium zu. Die Larven des 1. Stadium sind weiß mit einem dunklen Kopf, alle anderen Stadien variieren in ihrer Färbung von grün-braun bis schwarz und es gibt weiße, orange und braune Streifen die entlang des Körpers verlaufen. Die Entwicklungszeit der Larven ist temperaturabhängig und variiert von 20 Tagen im Sommer und 30 Tagen im Frühling oder Herbst.

Die Larven verpuppen sich im Boden in Tiefen zwischen 2 und 5 cm. Es bilden sich Puppen von 13–17 mm Länge und 5–6 mm Breite. Sie sind anfänglich gelblich-braun nehmen aber bald eine mahagoni-braune Farbe an. Nach 1–2 Wochen schlüpfen die erwachsenen Motten [97].

Bei früheren Arbeiten wurden die Oberflächenwachse von *P. unipuncta* untersucht [98]. Hauptkomponenten dieser Wachse sind langkettige verzweigte und unverzweig-

te Alkane und 2,5-Dialkyltetrahydrofurane. Neben diesen Verbindungen wurden im Gaschromatogramm auch zwei Verbindungen gefunden, die zu diesem Zeitpunkt nicht näher untersucht werden konnten, weil die Probenmenge eine zu geringe Konzentration dieser Verbindungen aufwies und so eine Isolierung nicht möglich war. Die zweite der unbekannten Verbindungen ist nur eine Spurenkomponente. Eine Strukturaufklärung nur aus massenspektrometrischen Daten war nicht möglich. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Isolierung der unbekannten Verbindung mit dem größeren Anteil aus einer größeren Probemenge. Mit Hilfe von NMR und MS wurde ein Strukturvorschlag erarbeitet, der durch anschließende Synthese auf Richtigkeit überprüft wurde.

## 6.2 Extrakte

Die Extrakte von *P. unipuncta* wurden von der Arbeitsgruppe um Prof. Jeremy McNeill, Université Laval in Quebec (Kanada) hergestellt. Dazu wurden im Labor gezüchtete Larven des 2. und 3. Stadium zunächst 10 Minuten lang mit 5 ml Hexan extrahiert und anschließend für 24 Stunden mit 5 ml Dichlormethan. Diese Extrakte wurden nach Erhalt gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht. In Abbildung 6.2 ist ein Totalionenchromatogramm eines Hexanextrakts dargestellt. Die Hexanextrakte bestehen ausschließlich aus Alkanen und Tetrahydrofuranen. Die Alkane sind sowohl unverzweigt als auch als mono- und dimethylsubstituiert.

Die Hauptkomponenten in den Hexanextrakten sind 13,17-, 15,19- und 17,21-Dimethylheptatriacontan (Peak 32 in Abb. 6.2), die alle gleichzeitig von der GC-Säule eluieren. Die Tetrahydrofurane kommen in den Extrakten nur in der 2,5-dialkylierten Form vor. Die Hauptkomponenten dieses Typs sind 2-Eicosyl-5-tridecyltetrahydrofuran, 2-Octadecyl-5-pentadecyltetrahydrofuran, 2-Docosyl-5-undecyltetrahydrofuran (Peak 33), die ebenfalls alle gleichzeitig von der Säule eluieren. Für nähere Information über die Zusammensetzung der Hexanextrakte von *P. unipuncta* sei auf die Dissertation von Cristian Arsene verwiesen [98]. Der in Abb. 6.2 mit der Nummer 30 gekennzeichneten Verbindung konnte bei der Analyse der Extrakte keine bekannte Verbindung zugeordnet werden. In Abb. 6.3 ist das Massenspektrum dieser Verbindung dargestellt. Die Struktur dieser Verbindung sollte aufgeklärt werden.



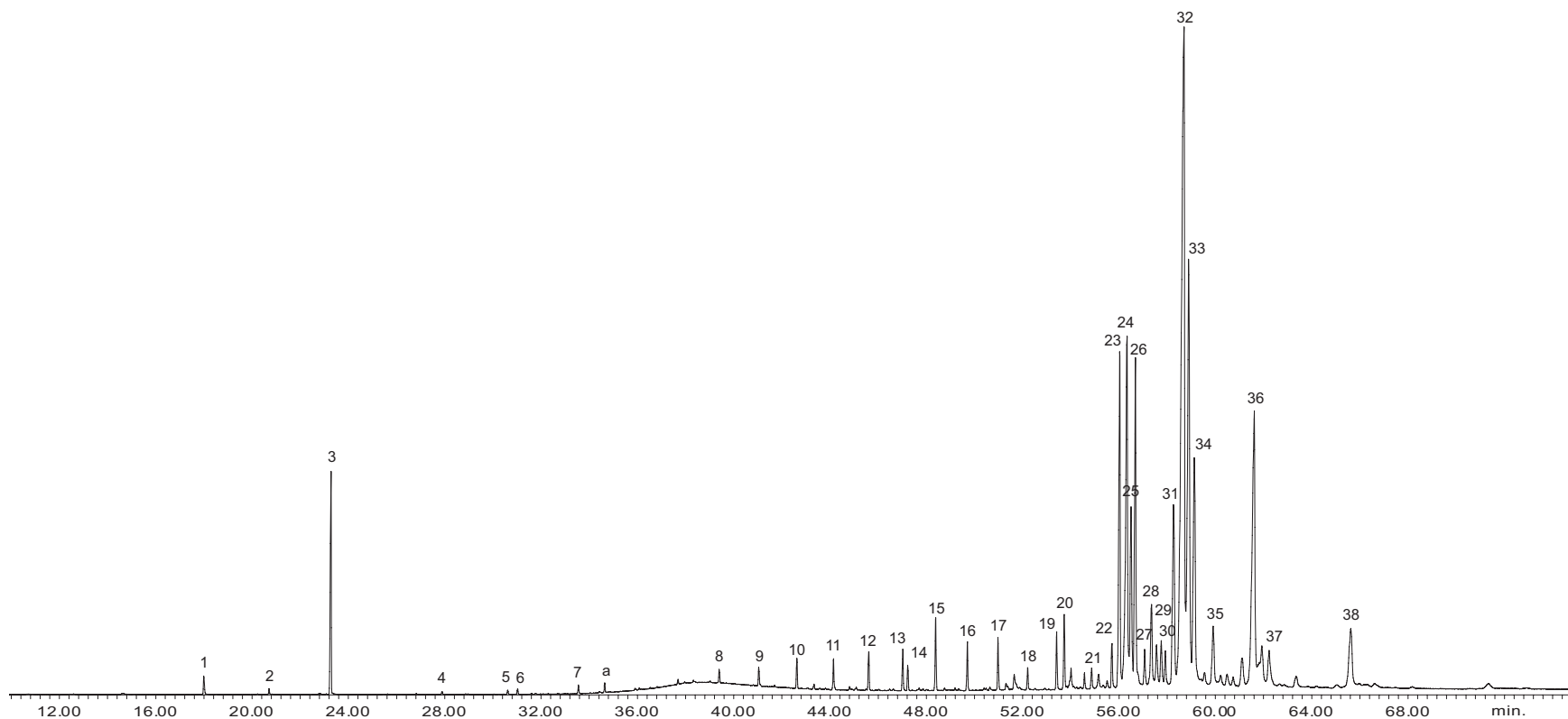


Abbildung 6.2: Totalionenchromatogramm eines Hexanextrakts von Larven von *Pseudaletia unipuncta*.

Für die Bezeichnung der Peaks s. Tab. 6.1. a) Artefakt

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

Tabelle 6.1: Inhaltsstoffe in dem Hexanextrakt (s. Abb. 6.2) von *P. unipuncta*

Peak-Nr.	Verbindung
1	Tridecan
2	Tetradecan
3	Pentadecan
4	Heptadecan
5	Hexadecanal
6	Tetradecansäure
7	Octadecanal
8	Tricosan
9	Tetracosan
10	Pentacosan
11	Hexadecan
12	Heptadecan
13	Octadecan
14	Squalen
15	Nonacosan
16	Triacontan
17	Hentriacontan
18	Dotriacontan
19	Tritriacontan
20	11-, 13-, 15-, 17-Methyltriacontan
21	11-, 13-, 14-, 15-Methyltetratriacontan
22	Pentatriacontan
23	11-, 13-, 15-, 17-Methylpentatriacontan
24	11,15-, 13,17-, 15,19-Dimethylpentatriacontan
25	2-Octadecyl-5-tridecyltetrahydrofuran
25	2-Eicosyl-5-undecyltetrahydrofuran
26	2-Octadecyl-5-tridecyltetrahydrofuran
27	11-, 12-, 13-, 15-, 17-Methylhexatriacontan
28	12,16-, 13,17-, 15,19-Dimethylhexatriacontan
29	2-Octadecyl-5-tetradecyltetrahydrofuran
29	2-Henicosyl-5-undecyltetrahydrofuran
29	2-Eicosyl-5-undecyltetrahydrofuran
29	2-Nonadecyl-5-tridecyltetrahydrofuran
30	unbekannte Verbindung (N)
31	11-, 13-, 15-, 17-, 19-Methylheptatriacontan
32	13,17-, 15,19-, 17,21-Dimethylheptatriacontan
33	cis-2-Eicosyl-5-tridecyltetrahydrofuran

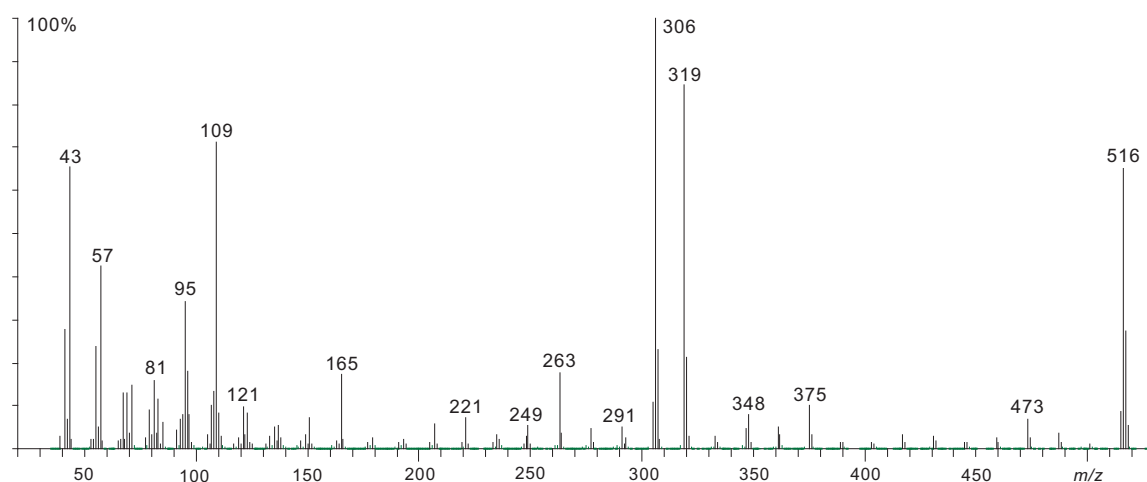


Abbildung 6.3: Massenspektrum der Verbindung 30 (= N) in Abb. 6.2

Tabelle 6.1: (Fortsetzung)

33	<i>cis</i> -2-Octadecyl-5-pentadecyltetrahydrofuran
33	<i>cis</i> -2-Docosyl-5-undecyltetrahydrofuran
34	<i>trans</i> -2-Eicosyl-5-tridecyltetrahydrofuran
34	<i>trans</i> -2-Octadecyl-5-pentadecyltetrahydrofuran
34	<i>trans</i> -2-Docosyl-5-undecyltetrahydrofuran
35	12,16-, 15,19-, 17,21-Dimethyloctatriacontan
36	13,17-, 15,19-, 17,21-Dimethylnonatriacontan
37	2-Eicosyl-5-pentadecyltetrahydrofuran
37	2-Docosyl-5-tridecyltetrahydrofuran
38	13,17-, 15,19-, 17,21-, 19,23-Dimethylhentetracontan

Die Dichlormethanextrakte von *P. unipuncta* (Abb. 6.4) enthalten hauptsächlich Fettsäuren und unverzweigte Alkane. Durch die lange Extraktionsdauer kann davon ausgegangen werden, dass diese Verbindungen zum großen Teil aus dem Körperinneren der Larven kommen. Bei dem in Abb. 6.4 gezeigten Chromatogramm ist die Hexadecansäure die Hauptkomponente der Fettsäuren. Allerdings gab es auch Extrakte, in denen die Stearinsäure als Hauptkomponente auftrat. Die Alkane treten in den Kettenlängen von C21 bis zu C29 auf und bilden die Hauptkomponenten in den Dichlormethanextrakten. Dabei sind Tricosan und Tetracosan die absoluten Hauptkomponenten. Zusätzlich zu den Alkanen und Fettsäuren findet sich auch Cholesterol.

Da in den Dichlormethanextrakten die Verbindung 30 (= N) gar nicht oder nur Spuren enthalten ist, wurden für die Analyse und Isolierung dieser Verbindung im Weiteren nur die Hexanextrakte verwendet.

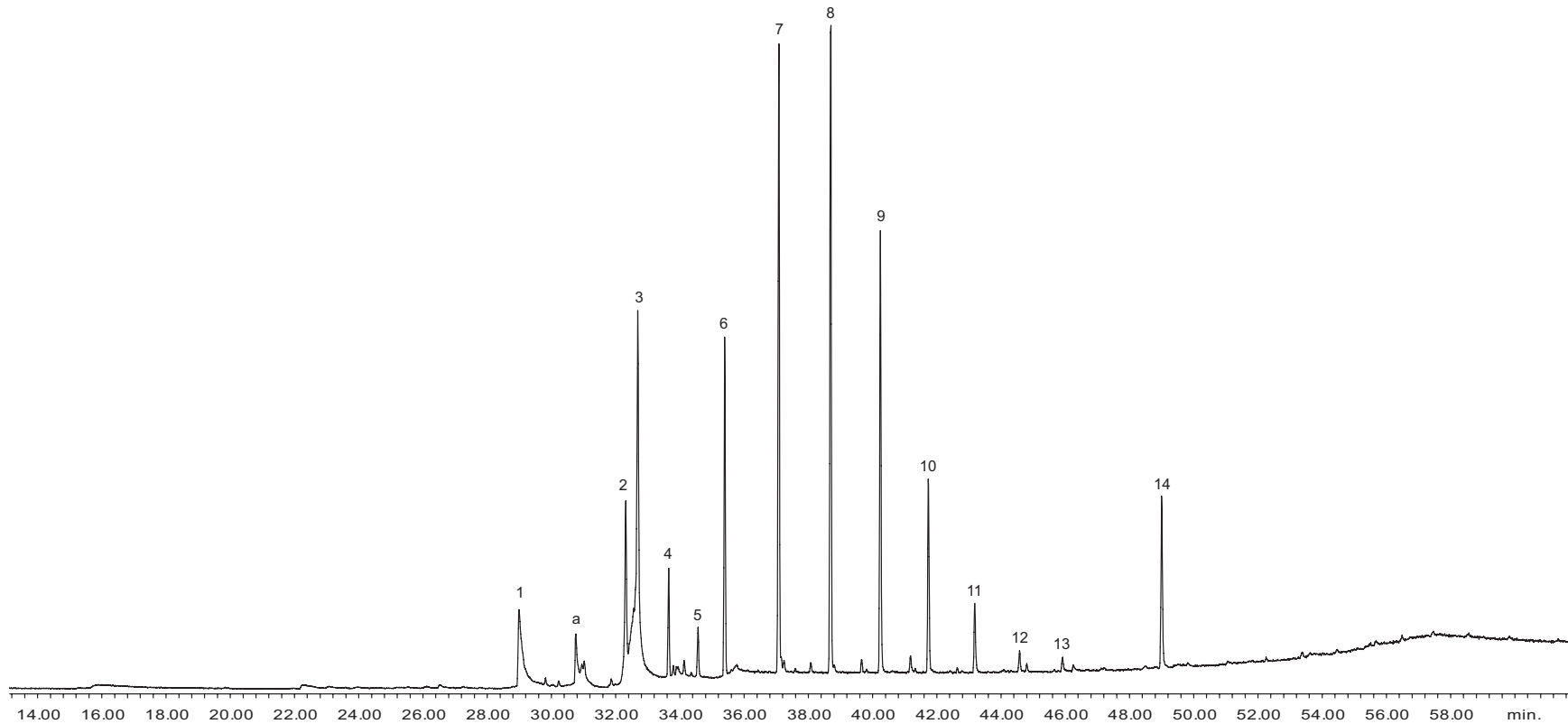


Abbildung 6.4: Totalionenchromatogramm eines Dichlormethanextrakts von Larven von *Pseudaletia unipuncta* (MSTFA-Derivat).

1) Tetradecansäure-TMS-ester, 2) Hexadecensäure-TMS-ester, 3) Hexadecensäure-TMS-ester, 4) Heneicosan, 5) Octadecanol-TMS-ether, 6) Docosan, 7) Tricosan, 8) Tetracosan, 9) Pentacosan, 10) Hexacosan, 11) Heptacosan, 12) Octacosan, 13) Nonacosan, 14) Cholesterol-TMS-ether, a) Artefakt

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

### 6.3 Isolierung und Strukturaufklärung

Zur Analytik von **N** wurden mehrere Hexanextrakte von *P. unipuncta* vereinigt und säulenchromatographisch getrennt. Zunächst wurden einige Fraktionen mit Pentan als Laufmittel gewonnen und danach wurde die Polarität des Laufmittels durch einen steigenden Dichlormethangehalt in Pentan/Dichlormethan-Gemischen erhöht. Im Anschluss daran wurden Fraktionen mit Dichlormethan und danach mit Methanol als Laufmittel erhalten. Dadurch wurde sichergestellt, dass alle Substanzen von der Säule eluierten. Der Naturstoff **N** eluierte mit Pentan als Laufmittel und konnte auf diese Weise isoliert bzw. angereichert werden. Die Fraktion, in der der Naturstoff **N** die Hauptkomponente darstellt, wurde für die weitere Analytik verwendet (Abb. 6.5).

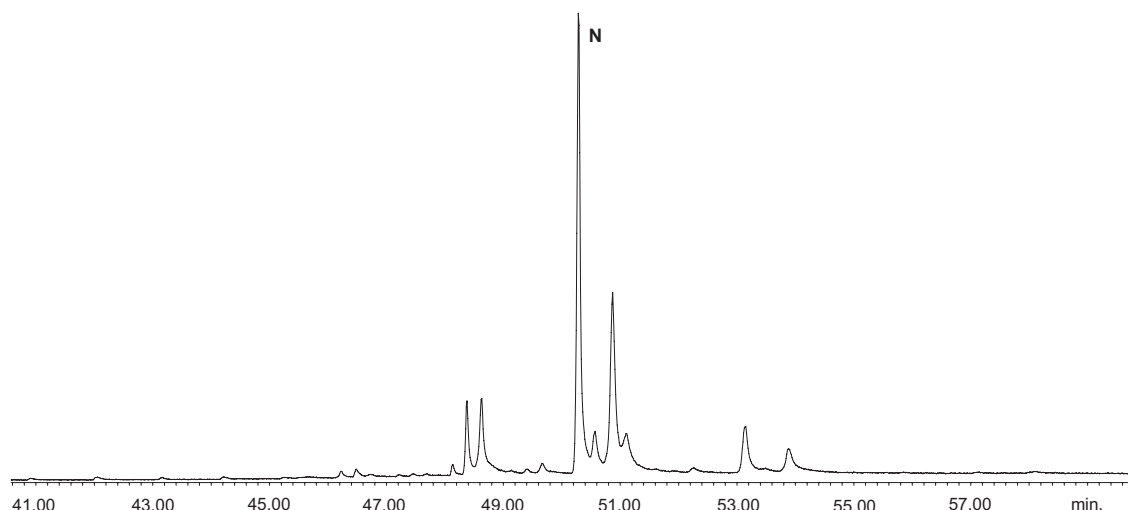


Abbildung 6.5: Gaschromatogramm des angereicherten Naturstoff **N** (BPX-5 fused silica Kapillare, 60 °C 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C)

Zunächst wurde diese Fraktion mit GC/HRMS untersucht und die exakte Molekülmasse vom Molekülion und von den wichtigsten Fragmenten bestimmt. Aus diesen exakten Massen konnten die atomare Zusammensetzung und daraus die Doppelbindungsäquivalente berechnet werden. Die Ergebnisse dieses Experimentes sind in der Tabelle 6.2 zusammengefasst.

Aus den HRMS-Daten wurde ein erster Strukturvorschlag ermittelt. Das Doppelbindungsäquivalent von drei passt gut zu einem Furanring, zwei Doppelbindungsäquivalente entsprechen den Doppelbindungen im Ring und das dritte Äquivalent wird durch den Ring selbst abgedeckt. Die beiden wichtigen Fragmente bei  $m/z = 319$

Tabelle 6.2: GC/HRMS-Daten von **N**

Ion [ $m/z$ ]	exakte Masse [amu]	Summenformel	theoret. Masse [amu]	DBÄ
516	516,5263	C <sub>36</sub> H <sub>68</sub> O <sub>1</sub>	516,5270	3
319	319,2999	C <sub>22</sub> H <sub>39</sub> O <sub>1</sub>	319,3000	3,5
306	306,2921	C <sub>21</sub> H <sub>38</sub> O <sub>1</sub>	306,2923	3

und  $m/z = 306$  deuten darauf hin, dass Alkylketten mit einer Länge von C15 abgespalten werden. Daher wurde angenommen, dass **N** ein dialkyliertes Furan mit zwei Hexadecylketten ist. Bei einem dialkylierten Furan gibt es allerdings verschiedene Möglichkeiten zwei Substituenten anzuordnen. Neben dem 2,5- gibt es noch das 2,4- oder 2,3-Substitutionsmuster, allerdings reichen die MS-Daten nicht aus, um sicher auf das Substitutionsmuster schließen zu können. Da eine 2,5-Anordnung von zwei Substituenten bei den im Extrakt vorhandenen Dialkyltetrahydrofuranen vorkommt, wurde zunächst angenommen, dass es sich bei **N** um 2,5-Hexadecylfuran handelt.

Gesichertere Aussagen über das Substitutionsmuster sind mit NMR-Messungen möglich. Daher wurden alle Fraktionen, die 2,4-Dihexadecylfuran in grösseren Anteilen enthielten vereinigt, um dadurch genügend Substanz für NMR Untersuchungen zu erhalten. Damit waren <sup>1</sup>H-NMR Untersuchungen möglich, auf <sup>13</sup>C-NMR Messungen musste auf Grund zu geringer Mengen verzichtet werden. Das <sup>1</sup>H-NMR ergab für die wichtigen Protonenresonanzen Singulets bei  $\delta = 6,95$  ppm und 5,90 ppm und Triplets bei  $\delta = 2,54$  ppm und 2,34 ppm (Tab. 6.3):

Tabelle 6.3: <sup>1</sup>H-NMR Daten des Naturstoffs **N**, Lösungsmittel C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>. Die chemischen Verschiebungen wurden auf das Lösungsmittelsignal ( $\delta = 7,16$  ppm) berechnet

Verschiebung $\delta$ [ppm]	Aufspaltung	Kopplungskonstante $J$ [Hz]
7,08	s	
5,90	s	
2,54	t	7,6
2,34	t	7,8

Aus diesen Daten zusammen mit den MS-Daten konnte ein genauerer Strukturvorschlag

entwickelt werden. Die beiden Singulettis bei 5,90 ppm und 6,95 ppm sind ein weiterer Hinweis darauf, dass es sich um ein aromatisches System handeln könnte. Ausserdem bedeutet es, dass diese aromatischen Protonen nicht in direkter Nachbarschaft stehen, da sonst eine Dublettaufspaltung zu erwarten gewesen wäre. Aus diesem Grunde ist es am wahrscheinlichsten, dass **N** ein 2,4-Hexadecylfuran ist. Ein Vergleich des NMR-Spektrums mit dem NMR-Spektrum eines vorhandenen 2,5-dialkylierten Furans zeigte im Bereich der aromatischen Protonen keine gute Übereinstimmung, so dass ein 2,5-Substitutionsmuster unwahrscheinlich ist. Zur sicheren Klärung des richtigen Substitutionsmusters wurden im weiteren 2,4- und 2,5-Dihexadecylfuran synthetisiert und die Spektren der beiden Verbindungen mit den Spektren des Naturstoffes verglichen. Das ebenfalls mögliche 2,3-Dialkyfuran wurde auf Grund der NMR-Daten ausgeschlossen.

## 6.4 Synthesen

### 6.4.1 Synthese von 2,5-Dihexadecylfuran

Gemäß der retrosynthetischen Zerlegung von 2,5-Dihexadecylfuran (**47**) (Abb. 6.6) sollte es möglich sein diese Verbindung ausgehend vom Furan (**49**) zu synthetisieren, indem nacheinander die entsprechenden Alkylketten angeknüpft werden.

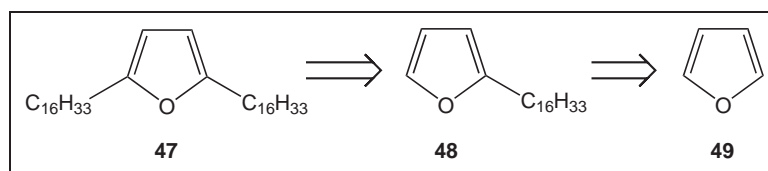


Abbildung 6.6: Retrosynthese von 2,5-Dihexadecylfuran

In Abb. 6.7 ist der entsprechende Synthesepfad dargestellt. Im ersten Schritt wird frisch destilliertes Furan (**49**) mit *tert*-Butyllithium in ortho-Position deprotoniert und anschließend mit Hexadecylbromid umgesetzt. Da 2,5-Dihexadecylfuran (**47**) ein symmetrisches Furan ist, kann das erhaltene 2-Hexadecylfuran (**48**) ohne weitere Aufarbeitung im selben Reaktionsansatz erneut in der ortho-Position durch *tert*-Butyllithium deprotoniert und mit Hexadecylbromid umgesetzt werden.

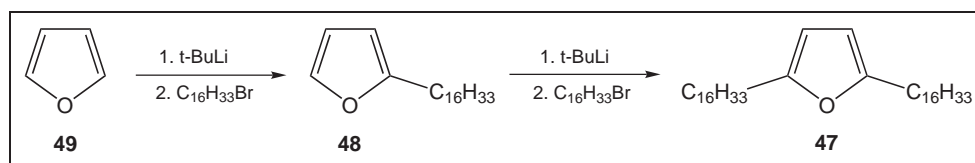


Abbildung 6.7: Synthese von 2,5-Dihexadecylfuran ausgehend von Furan

### 6.4.2 Synthese von 2,4-Dihexadecylfuran

Die Synthese von 2,4-disubstituierten Furanen ist komplexer, weil für dieses Substitutionsmuster keine Standardmethoden existieren. Im Prinzip gibt es drei Ansätze um diese Art von Furanen herzustellen (Abb. 6.8). Einerseits kann man von einem aromati-

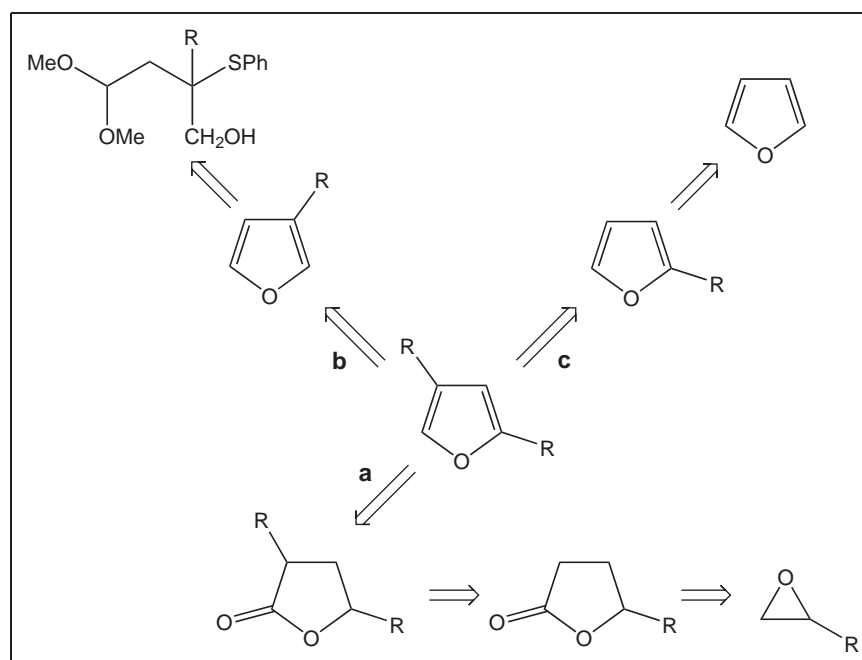


Abbildung 6.8: Retrosynthese von 2,4-Dihexadecylfuran

schen Grundsystem ausgehen und ähnlich wie bei den 2,5-Dialkylfuranen versuchen die Alkylketten nacheinander an den Aromaten zu koppeln. Dabei gibt es dann die Möglichkeiten zuerst die Alkylkette in der leichter zugänglichen 2-Position und danach die zweite Alkylkette in der 4-Position anzubauen, oder es wird von einem 3-Alkylfuran ausgegangen, dass dann durch Kopplung mit der zweiten Alkylkette zum 2,4-Dialkylfuran wird. Das 3-Alkylfuran wiederum muss z.B. über eine nichtaromatische Vorstufe zugänglich gemacht werden.

Zum anderen können zuerst die Substituenten in ein geeignetes nichtaromatisches System eingefügt werden und erst im weiteren Verlauf der Reaktionssequenz erfolgt dann



Ringschluss und Aromatisierung zum gewünschten dialkylierten Furan. Als geeignete nichtaromatische Vorläufermoleküle kommen  $\gamma$ -Lactone in Betracht. Diese haben den Vorteil, dass das Ringsystem schon vorhanden ist und nur noch die Substituenten angebaut werden müssen. Anschließende Aromatisierung würde zum substituierten Furan führen.

Die dritte Möglichkeit wäre ein Mittelweg zu den beiden anderen Ansätzen. In diesem Fall wird erst eine Alkylkette an ein nichtaromatisches Molekül gekoppelt und dann erfolgen Ringschluss und Aromatisierung, so dass erst ein monoalkyliertes Furan erhalten wird. Im Anschluß daran erfolgt dann die Zweitalkylierung.

Bei der Reaktionssequenz gemäß Weg **a** in Abb. 6.8 wird von einem Lacton als nichtaromatisches Vorläufersystem ausgegangen und die Aromatisierung zum Furan erfolgt erst im letzten Schritt [99]. In Abb. 6.9 ist die zum Weg **a** gehörende Reaktionsreihenfolge gezeigt.

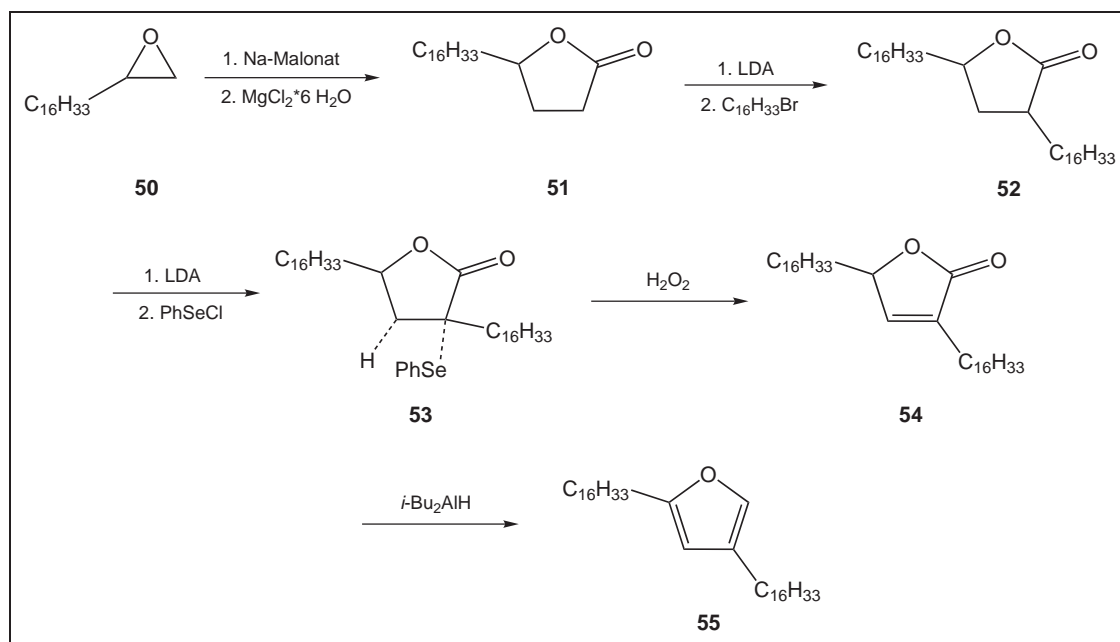


Abbildung 6.9: Synthesepfad zur Darstellung von 2,4-Dihexadecylfuran nach Weg **a**

Als Startmolekül in dieser Sequenz dient kommerziell erhältliches Octadecenoxid (**50**). Im ersten Reaktionsschritt erfolgt eine basenkatalysierte Epoxidöffnung. Das Malonat-Anion greift das endständige C-Atom an, da dieses sterisch am wenigsten gehindert ist. Bei der Öffnung entsteht ein Oxonium-Ion, welches das positiv polarisierte C-Atom einer Carboxylgruppe des Malonats angreift. Unter Ringschluss entsteht ein Fünfring, der unter anschließender Decarboxylierung in das Lacton **51** übergeht.

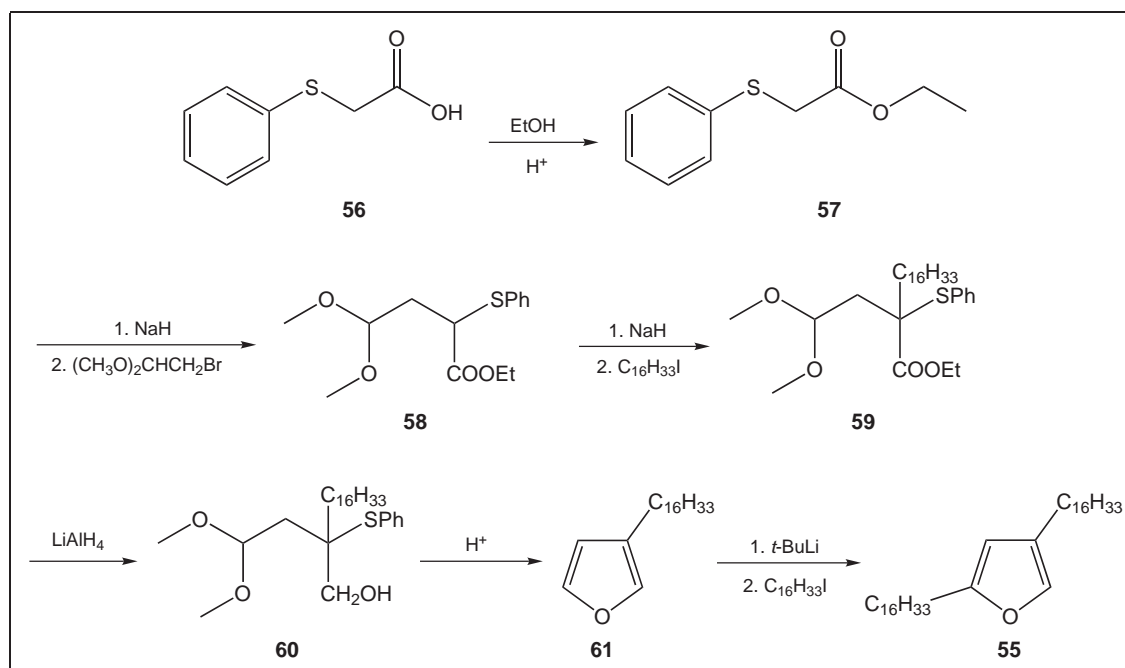
Im nächsten Schritt wird das Lacton **51** durch Lithiumdiisopropylamin (LDA) in  $\alpha$ -Position deprotoniert und das entstehende Anion wird mit Hexadecylbromid zu **52** abgefangen. Die Selenylierung erfolgt durch erneute  $\alpha$ -Deprotonierung und anschließender Reaktion des Lithiumenolats mit Phenylselenenylchlorid. Durch Oxidation des Selen in **53** mit Wasserstoffperoxid und nachfolgender Eliminierung von Phenylselenoxid entsteht das Butenolid **54**, dass durch Aromatisierung mit Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAL) in das 2,4-Dihexadecylfuran (**55**) überführt wird.

Nach diesem Weg konnte das 2,4-Dihexadecylfuran (**55**) allerdings nicht erfolgreich synthetisiert werden, denn unter den gewählten Bedingungen fand die Alkylierung des Lactons mit Hexadecylbromid nicht statt. Diese Alkylierung wurde schließlich mit anderen, reaktiveren Alkylierungsreagentien, z.B. Hexadecylmesylat und Hexadecyliodid versucht.

Aus Hexadecanol wurde das Hexadecylmesylat hergestellt, das auf Grund der guten Mesylatabgangsgruppe reaktiver als das Hexadecylbromid sein sollte. Das Hexadecyliodid ist mit der Finkelsteinreaktion leicht und nahezu quantitativ aus Hexadecylbromid zugänglich. Da das große Iodid-Ion eine bessere Abgangsgruppe als das Bromid-Ion ist, sollte Hexadecyliodid reaktiver als das entsprechende Bromid sein. Die Versuche das Lacton mit dem Hexadecylmesylat bzw. Hexadecyliodid zu alkylieren schlugen allerdings ebenfalls fehl. Schließlich wurde die Synthese von 2,4-Dihexadecylfuran (**55**) nach Weg **a** an dieser Stelle abgebrochen.

Der Reaktionsweg **b** (Abb. 6.10) geht ebenfalls von nichtaromatischen Vorstufen aus, das aromatische System wird erst im vorletzten Schritt erzeugt.

Es wird vom Ethyl(phenylthio)acetat (**57**) ausgegangen, was einfach durch Veresterung der entsprechenden Phenylthioessigsäure (**56**) mit Ethanol hergestellt werden kann. Der Ethylester **57** wird im nächsten Schritt mit Natriumhydrid in DMF in der  $\alpha$ -Position deprotoniert und das entstehende Enolat-Ion greift 2-Bromacetaldehyddimethylacetal an und es entsteht das Butyrat **58**. In der  $\alpha$ -Position erfolgt eine weitere Deprotonierung mit Natriumhydrid in DMF mit anschließender Alkylierung zu **59**. Der alkylierte Ester wird dann mit Lithiumaluminiumhydrid zum Alkohol **60** reduziert und durch Erhitzen in Toluol unter Anwesenheit von katalytischen Mengen *p*-Toluolsulfonsäure erfolgen Ringschluß und Aromatisierung zum 3-Hexadecylfuran (**61**). Der Mechanismus der Zyklisierung zum 3-Hexadecylfuran ist in Abb. 6.11 gezeigt [100].

Abbildung 6.10: Syntheseplan zur Darstellung von 2,4-Dihexadecylfuran nach Weg **b**

Zunächst bildet sich unter Abspaltung von Methanol das zyklische Intermediat **62**. Durch die hohe Temperatur kommt es zu einer weiteren Abspaltung von Methanol und es entsteht 3-Hexadecyl-3-(phenylthio)dihydrofuran (**63**), das eine labile Phenylthio-Gruppe in allylischer Position trägt. Durch Abspaltung von Phenylthiol entsteht 3-Hexadecylfuran (**61**). Dieses Furan **61** wird dann in der 2-Position mit *tert*-Butylli-

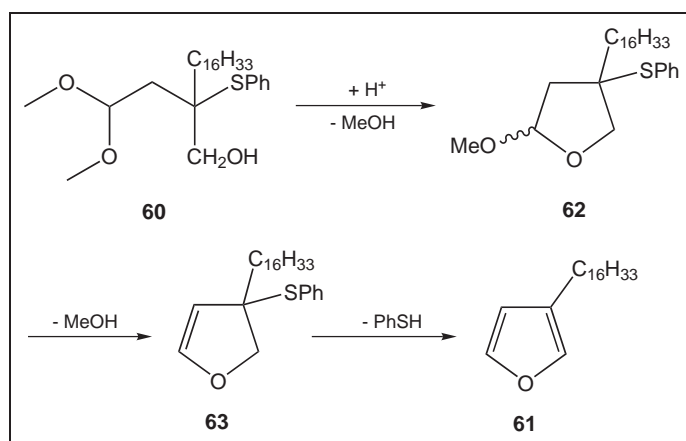


Abbildung 6.11: Mechanismus der Zyklisierung zu 3-Hexadecylfuran

thium deprotoniert und anschliessend mit Hexadecyliodid alkyliert. Diese Alkylierung ist allerdings u.a. bedingt durch die Molekülgröße nicht mehr so einfach wie z.B. eine ortho-Alkylierung von Furan. Zusätzlich hat die lange Hexadecylkette einen deaktivierenden Einfluß auf den aromatischen Ring.

Tabelle 6.4: Darstellung von 2,4-Dihexadecylfuran (**55**) nach Weg **b**

Metallierungs- mittel	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub> X	Temp.	Solvens (Co-Solvens)	Anteil an Mischfraktion*	Lit.
<i>t</i> -BuLi	I	-30 °C	THF	-	
<i>t</i> -BuLi	I	RT	THF	-	[101]
<i>t</i> -BuLi	I	RT	THF (DMPU)	4 %	
KO- <i>t</i> -Bu/BuLi	I	RT	Pentan	4 %	
PhLi	I	RT	Glyme	-	[102]
KO- <i>t</i> -Bu/BuLi	SO <sub>3</sub> CF <sub>3</sub>	-60 °C	Pentan, THF (TMEDA)	53 %	[30]

\* Die quantitative Zusammensetzung der Mischfraktionen wurde gaschromatographisch bestimmt

Es wurden verschiedene Methoden zur Deprotonierung versucht, die in Tab. 6.4 zusammengefasst sind. Die Deprotonierung mit *tert*-Butyllithium bei -30 °C in THF und anschliessende Alkylierung mit Hexadecyliodid zeigte keinen Umsatz. Nach der Variante von McKeown [101] wurde versucht das 3-Hexadecylfuran (**61**) bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 24 h zu deprotonieren, doch erneut konnte kein Umsatz festgestellt werden. Bei der Verwendung von DMPU als Co-Solvens konnte nach der säulenchromatographischen Aufarbeitung eine Mischfraktion aus mono- und 2,4-dialkylierten Furan erhalten werden, allerdings war der Anteil von 2,4-Dihexadecylfuran (**55**) in dieser Mischfraktion nur 4 %.

Nach der Variante von Schlosser [102] wurde das 3-Hexadecylfuran (**61**) mit einem Gemisch aus Kalium-*tert*-butanolat und Butyllithium in Pentan deprotoniert und danach mit Hexadecyliodid versetzt. Nach der Aufarbeitung wurde eine Mischfraktion mit einem Anteil von 2,4-Dihexadecylfuran (**55**) von 4 % erhalten. Nach Schlosser kann auch Phenyllithium in 1,2-Dimethoxyethan als Metallierungsmittel verwendet werden, doch in diesem Fall konnte ebenfalls keine Umsetzung festgestellt werden.

Als nächstes wurde eine Reaktion nach Brandsma [30] versucht. Das 3-Hexadecylfuran (**61**) wurde bei -60 °C von einem Gemisch aus Kalium-*tert*-butanolat und Butyllithium in Pentan und TMEDA als Co-Solvens für 24 h metalliert. Anschließend wurde

Hexadecyltriflat zugegeben und nach 4 d Reaktionszeit wurde nach der säulenchromatographischen Reinigung eine Mischfraktion erhalten, die zu 53 % aus dem gewünschten 2,4-Dihexadecylfuran (**55**) bestand und zu 30 % aus unumgesetztem 3-Hexadecylfuran (**61**). Mit einem Anteil von 8 % ist das 2,3-Dihexadecylfuran entstanden. Diese Verbindungen konnten nicht weiter getrennt werden, da diese bei der Säulenchromatographie mit Pentan als Laufmittel gleichzeitig eluierten.

Analog der Darstellung von 2,5-Dihexadecylfuran (s. 6.4.1) wird bei dem Reaktionsweg **c** (Abb. 6.12) vom Furan (**49**) als aromatischer Vorstufe ausgegangen. Diese wird

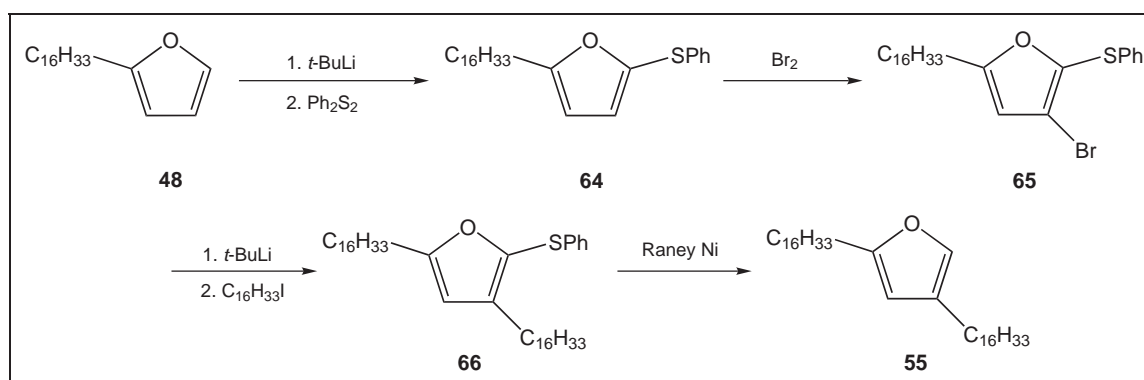


Abbildung 6.12: Syntheseplan zur Darstellung von 2,4-Dihexadecylfuran nach Weg **c**

zunächst mit *tert*-Butyllithium metalliert und mit Hexadecyliodid alkyliert. Das entstandene 2-Hexadecylfuran (**48**) wird dann erneut an der noch freien *ortho*-Position mit *tert*-Butyllithium deprotoniert und das entstehende Furyllithium wird mit Diphenyldisulfid abgefangen. Dabei entsteht das Furan **64**. Durch den Thiophenylsubstituenten wird für die weiteren Reaktionen die 5-Position blockiert und gleichzeitig die 4-Position für die folgende Bromierung zu **65** aktiviert. Nach einem Brom-Lithiumaustausch mit *tert*-Butyllithium und Reaktion des Furyllithium mit Hexadecyliodid entsteht das Furan **66**. Im letzten Schritt wird die Thiophenylgruppe durch Raney-Nickel abgespalten und es entsteht das gewünschte 2,4-Dihexadecylfuran (**55**).

Bei dieser Reaktionssequenz erwies sich erneut die Zweitalkylierung als problematisch. Es konnte keine Umsetzung beobachtet werden und die Edukte wurden wieder zurückgewonnen. Da das 2,4-Dihexadecylfuran zwischenzeitlich schon nach dem Weg **b** zumindest als Gemisch mit dem 3-Hexadecylfuran hergestellt werden konnte, wurde auf eine weitere Optimierung von Weg **c** verzichtet und der Versuch nach der Bromierung abgebrochen.

## 6.5 Ergebnis

Nach der Synthese der vorgeschlagenen Strukturen wurden die spektrometrischen und spektroskopischen Daten der synthetisierten Verbindungen mit den Daten des Naturstoffs verglichen. In Abb. 6.13 sind die Massenspektren des Naturstoffs, vom 2,5-Dihexadecylfuran, vom 2,4-Dihexadecylfuran und zusätzlich vom 2,3-Dihexadecylfuran gezeigt. Wie zu erkennen ist, sind sich alle Spektren sehr ähnlich. Das Massenspektrum von 2,5-Dihexadecylfuran (**B** in Abb. 6.13) weist im höheren Massenbereich einen Peak bei  $m/z = 305$  statt einen bei  $m/z = 306$  auf. Ausserdem ist die Intensität der Gruppe 305/319 im 2,5-Dihexadecylfuran viel kleiner als die Intensität der Gruppe 306/319 im Naturstoff (**A** in Abb. 6.13). Desweiteren fällt das Fehlen des Peaks  $m/z = 263$  auf und im unteren Massenbereich ist der Peak  $m/z = 95$  größer als der Peak  $m/z = 109$ , der im Naturstoff eine höhere Intensität aufweist. Das Massenspektrum von 2,4-Dihexadecylfuran (**C** in Abb. 6.13) weicht nicht wesentlich von dem Spektrum des Naturstoffs ab. Daher ist die Struktur 2,4-Dihexadecylfuran.

Diese Annahme kann durch Vergleich der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren unterstützt werden, da der Vergleich mit den Daten der Naturprobe (s. Tab. 6.3) eine sehr gute Übereinstimmung zeigt. Zur Veranschaulichung sind in Abb. 6.14 die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren von Naturstoff und vom 2,4-Dihexadecylfuran übereinandergelegt.

Gut zu erkennen sind die Signale der aromatischen Protonen bei  $\delta = 7,08$  ppm und bei  $\delta = 5,91$  ppm, wobei das erste Signal zum Proton C-2 gehört. Die beiden Triplets bei  $\delta = 2,57$  ppm und  $\delta = 2,34$  ppm sind die Signale der Methylengruppen, die direkt am Ring gebunden sind. Dabei gehört die Methylengruppe bei tieferem Feld zur Alkylkette an C-2. Die in Abb. 6.14 markierten Signale stammen vom 3-Hexadecylfuran. Damit lässt sich der Gehalt von 2,4-Dihexadecylfuran bestimmen. Mit 75 % liegt er höher als der gaschromatographisch bestimmte Gehalt.

## 6.6 Diskussion

Mit den MS- und NMR-Daten, die alle eine sehr gute Übereinstimmung zeigen, konnte die unbekannten Verbindungen aus den cuticulären Wachsen von *P. unipuncta* als 2,4-Dihexadecylfuran identifiziert werden. In den Extrakten konnte neben dem 2,4-

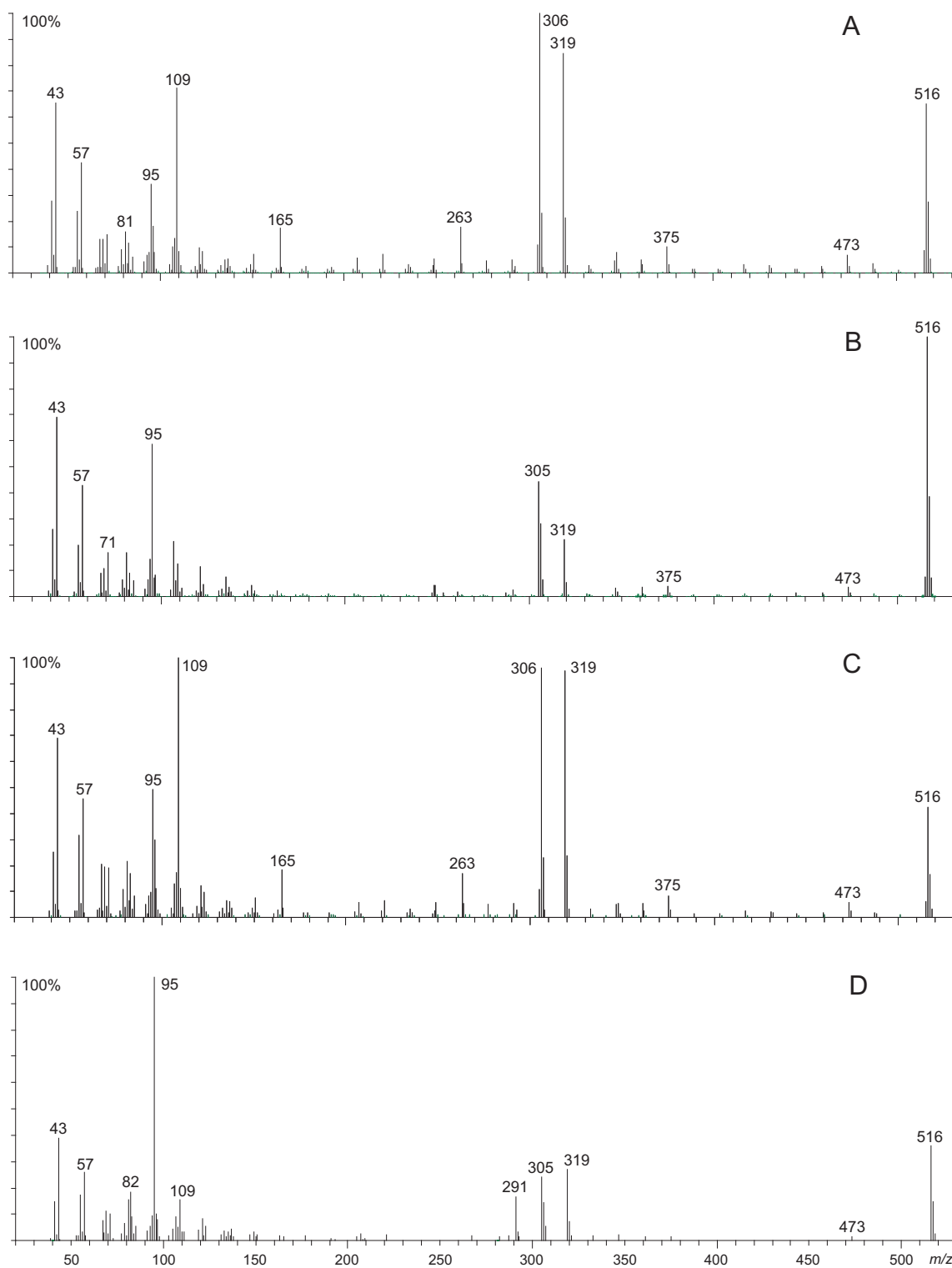


Abbildung 6.13: Massenspektrum vom Naturstoff **A** im Vergleich zu den Massenspektren von 2,5-Dihexadecylfuran **B**, 2,4-Dihexadecylfuran **C** und 2,3-Dihexadecylfuran **D**

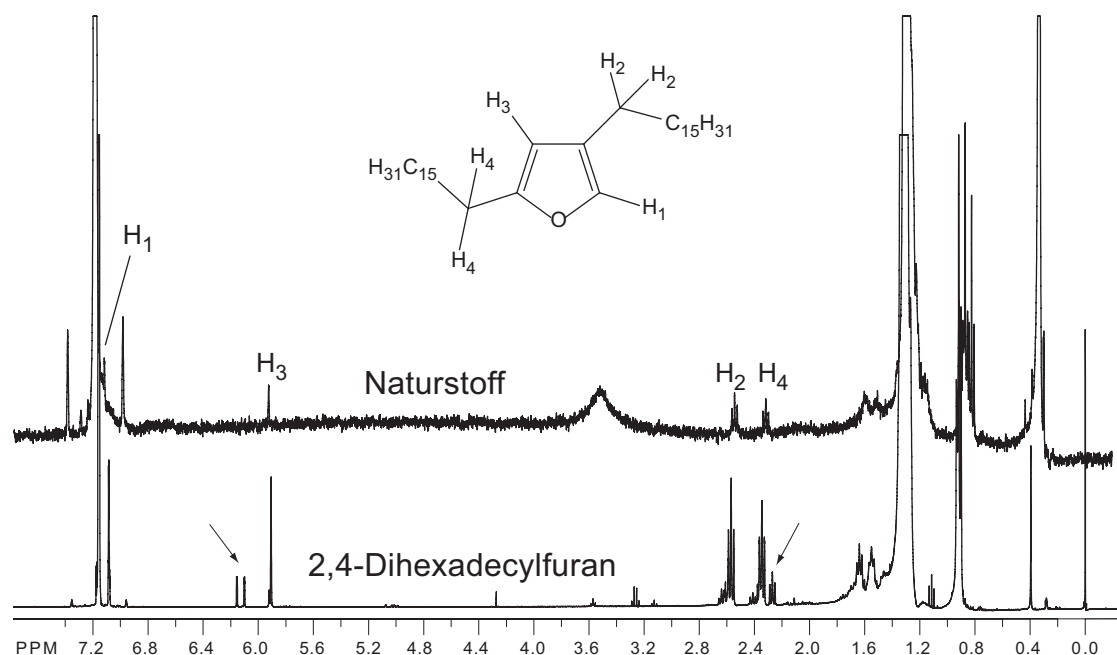


Abbildung 6.14: 400 MHz  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren von Naturstoff und 2,4-Dihexadecylfuran, Lösungsmittel  $\text{C}_6\text{D}_6$ . Die markierten Signale stammen vom 3-Hexadecylfuran

Dihexadecylfuran ein weiteres Furan mit einer Masse von  $m/z = 544$  gefunden werden (Abb. 6.15). Das Zerfallsmuster ist dem des 2,4-Dihexadecylfurans sehr analog, mit

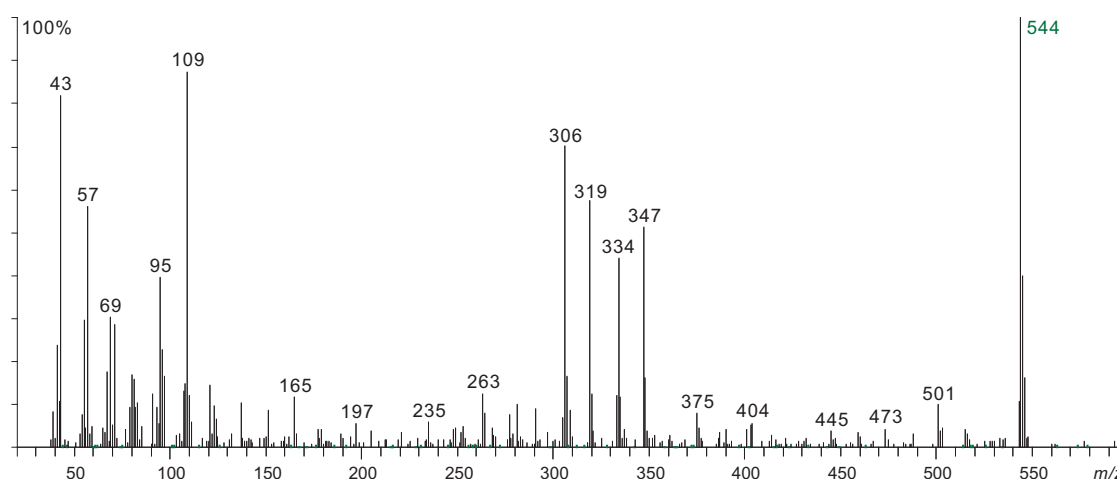


Abbildung 6.15: Massenspektrum von 2-Octadecyl-4-hexadecyl- und/oder 2-Hexadecyl-4-octadecylfuran

wichtigen Fragmenten bei  $m/z = 347$ ,  $334$ ,  $319$  und  $306$ . Bei diesem Furan scheint es sich um ein homologes Furan zu handeln, dass um 2 Methyleinheiten verlängert ist. Die im Vergleich zum 2,4-Dihexadecylfuran höhere Anzahl von charakteristischen Peaks deutet darauf hin, dass dieses Furan unsymmetrisch ist, d.h. eine Alkylkette



besteht aus 18 Kohlenstoffatomen und die andere aus 16. Aus der Analogie der Massenspektren ( $306 \rightarrow 334$ ,  $319 \rightarrow 347$ ) lässt sich ebenfalls die 2,4-Verzweigung erkennen. Das 2,4-Substitutionsmuster ist relativ ungewöhnlich, denn das Vorhandensein von 2,5-Tetrahydrofuranen in den Extrakten der Tiere hätte in erster Linie ein 2,5-substituiertes Furan vermuten lassen. Doch 2,5-Dihexadecylfuran konnte in den Extrakten nicht gefunden werden. Bei den Tetrahydrofuranen findet man allerdings eine ungeradzahlige Kohlenstoffkette, während bei den Furanen eine geradzahlige Kohlenstoffkette auftritt. Daher muss hier ein anderer Biosyntheseweg vorliegen.

Die Biosynthese von 2,4-Dihexadecylfuran in *P. unipunctata* sollte aufgeklärt werden. Die Furanstruktur könnte durch eine Kopf-Kopf-Kupplung von zwei Molekülen Octadecansäure entstehen (Abb. 6.16). Das Malonsäurederivat der Octadecansäure **67** greift

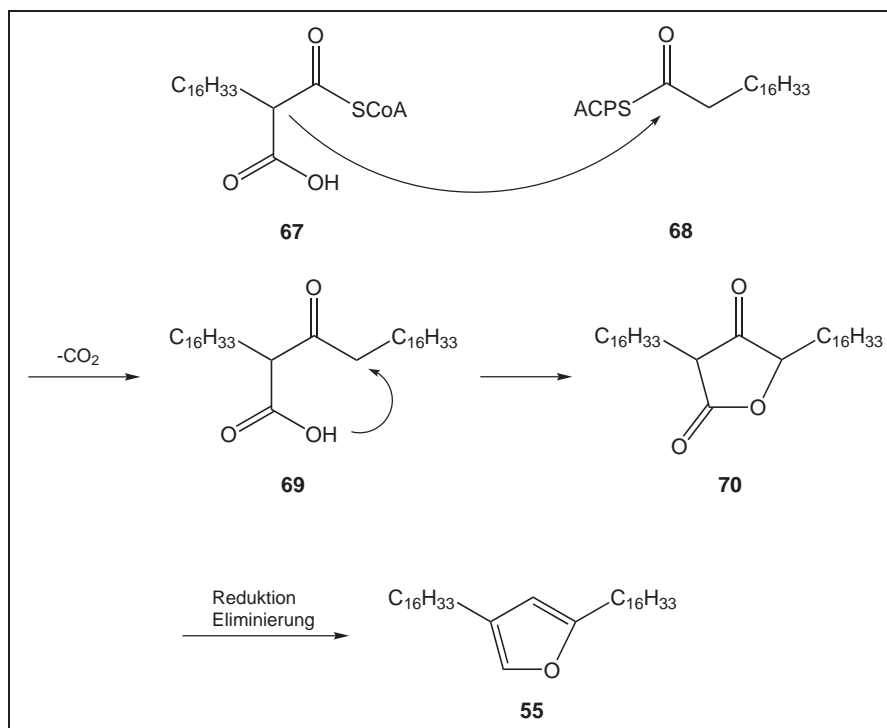


Abbildung 6.16: Vorgeschlagene Biosynthese von 2,4-Dihexadecylfuran

ein weiteres Molekül Octadecansäure (**68**) an und unter CO<sub>2</sub> Abspaltung entsteht **69**. Die freie OH-Gruppe greift das freie α-C-Atom an und es bildet sich das Ketolacton **70**. Nach Reduktion und Eliminierung entsteht 2,4-Dihexadecylfuran (**55**). Dies ist ein für Insekten ungewöhnlicher Biosyntheseweg, da eine Kopf-Kopf-Verknüpfung zweier Fettsäuren zu einer langkettigen Verbindung bisher noch nicht beschrieben wurde. Zum Überprüfen dieser Idee wurde deuteriummarkierte D<sub>35</sub>-Octadecansäure verfüt-

tert. Nach den Fütterungsexperimenten wurden die Tiere extrahiert und die Extrakte auf Anwesenheit von markiertem 2,4-Dihexadecylfuran untersucht. Allerdings konnte kein Einbau von Deuterium festgestellt werden.

Dies ist der erste Fall bei dem 2,4-dialkylsubstituierte Furane in Insekten nachgewiesen werden konnten, denn soweit bekannt wurde diese Substitutionsmuster bei Insekten bisher nicht beschrieben. In Bakterien tritt dieses Substitutionsmuster bei den Methanofuranen auf. Dabei handelt es sich um eine Strukturklasse bei der ein 2-Aminomethylfuran in 4-Position mit einer substituierten Phenoxygruppe verbunden ist (Abb. 6.17). Methanofuran ist ein Coenzym, dass in methanogenen Archaeobakterien bei der Reduktion von  $\text{CO}_2$  zu Methan eine Rolle spielt [103].

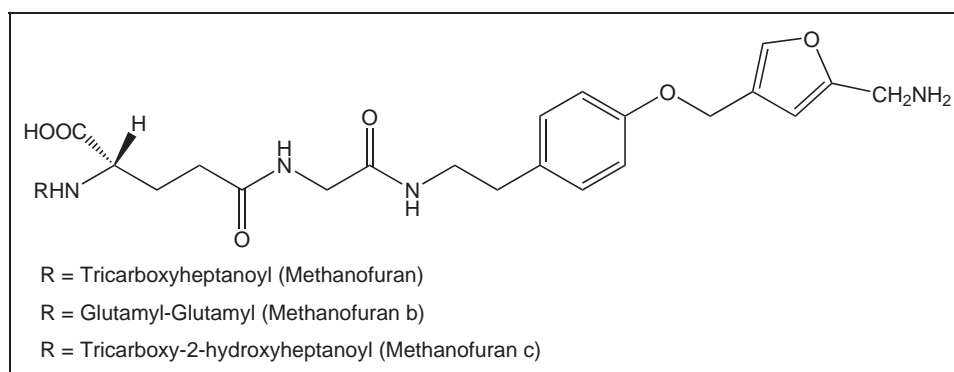


Abbildung 6.17: Methanofuran

## 7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die Pheromone untersucht, die bei der Florfliege *Chrysopa oculata* und dem Marienkäfer *Cheilomenes sexmaculata* die Eiablage hemmen. Die Larven dieser aphidophagen Spezies geben ein Sekret ab, dass artgleiche Weibchen daran hindert, an diesen Stellen Eier abzulegen. Auf diese Weise wird Nahrungskonkurrenz und Kannibalismus effektiv verhindert bzw. eingeschränkt. An Sephadex LH-20 fraktionierte Extrakte von Larven des 1. Stadiums wurden auf ihre biologische Aktivität untersucht. Aktive Fraktionen wurden erneut an Sephadex LH-20 fraktioniert und wiederrum getestet. Die aktiven Fraktionen von *C. oculata* enthalten Alkane und Fettsäuren. Diese Säuren (Palmitin-, Stearin-, Öl- und Linolensäure) wurden einzeln und als Gemisch von Dr. Růžička auf ihre biologische Aktivität untersucht. Alle haben einen stimulierenden Einfluß auf die Eiablage. Speziell Ölsäure zeigt eine große Aktivität. Es wird postuliert, dass bei *C. oculata* ein Gemisch der Alkane für die Aktivität verantwortlich ist.

Extrakte von Larven im 1. Stadium von *C. sexmaculata* wurden fraktioniert und die Bioaktivität mittels Biotests verfolgt. In allen so gewonnenen aktiven Fraktionen waren Penta-, Hepta- und Nonacosan die Hauptkomponenten. Sie wurden einzeln und als Gemisch auf ihre Aktivität getestet, erwiesen sich hierbei allerdings als inaktiv. Eine Nebenkomponeute in den Extrakten der Larven und der Larvenspuren war ausserdem (Z)-12-Pentacosen. Dieses wurde synthetisiert und auf seine Aktivität getestet. Dieses Alken hemmt die Eiablage bei Weibchen von *C. sexmaculata*, allerdings erst in relativ hohen Konzentrationen. Eventuell sind noch andere Substanzen für die Aktivität mit verantwortlich. In Extrakten der verwandten Coccinelliden *Cycloneda limbifer* und *Ceratomegilla undecimnotata* ist 9-Pentacosen enthalten. Dieses wurde mit beiden Spezies getestet, erwies sich aber als inaktiv. Interspezifische Wirkungen der getesteten Substanzen konnten nicht festgestellt werden.

Die Metabolisierung und absolute Konfiguration von Creatonotin B im Bärenspinner *Estigmene acrea* wurde untersucht. Die Creatonotine sind ein Zwischenprodukt in der Biosynthese des Hydroxydanaidal und werden von den Tieren aus Alkaloiden pflanzlichen Ursprungs hergestellt. In erwachsenen Männchen wurde nach dem Verfüttern von Creatonotin B ein geringerer Alkaloidgehalt festgestellt als in den erwachsenen Weibchen. Die Ursache ist die Produktion von Hydroxydanaidal aus einem Teil der Creatonotine. Das Creatonotin B ist in den Tieren (2'*R*,3'*S*)- und (2'*S*,3'*S*)-konfiguriert. Der Hydroxydanaidalgehalt der Coremata in Abhängigkeit von der pflanzlichen Alkaloidquelle wurde untersucht. Es hat sich gezeigt, dass *E. acrea* in der Lage ist, einen grossen Teil der verschiedenen Pyrrolizidinalkaloidstrukturtypen als Alkaloidquelle und damit als Quelle für die Hydroxydanaidalproduktion zu nutzen. Die männlichen Bärenspinner werben mit Hydroxydanaidal für ihren Alkaloidgehalt und die Pyrrolizidinalkaloide fungieren als „Hochzeitsgeschenke“.

Die Männchen der Motte *Eucereon varium* geben bei der Paarung über spezielle Schuppen ein Sekret an die Weibchen ab. Dieses Sekret besteht ausschließlich aus Glucose und einem Disaccharid, dessen Struktur aufgeklärt wurde. Durch Hydrolyse mit einem sauren Ionenaustauscher wurde dieses Disaccharid in seine Monomerbausteine gespalten. Reduktion der Monomere zu den entsprechenden Zuckeralkoholen und Vergleich der gaschromatographischen Retentionszeiten mit anderen Zuckeralkoholen zeigte, dass das Disaccharid aus zwei Glucoseeinheiten aufgebaut ist. Durch NMR-spektroskopische und massenspektrometrische Messungen wurde ermittelt, dass es sich bei dem Disaccharid um  $\alpha,\alpha$ -1,1-Trehalose handelt.

Ein weiterer Teil der Arbeit galt der Strukturaufklärung einer bis dahin unbekannten Substanz aus der Kutikula von Larven der Motte *Pseudaletia unipuncta*. Durch säulenchromatographische Fraktionierung an Kieselgel konnte diese Substanz angereichert werden. Die Bestimmung der exakten Molekülmasse ergab einen Wert von 516,5262 amu. Dieser korrespondiert mit einer Summenformel von  $C_{36}H_{68}O$ . Auf Grundlage der Molekülmasse und  $^1H$ -NMR Messungen wurde 2,4-Dihexadecylfuran als Struktur vorgeschlagen. Ausgehend von Phenylthioessigsäure konnte 2,4-Dihexadecylfuran in einer 6-stufigen Synthese dargestellt werden. Ein Vergleich der spektroskopischen Daten bestätigte den Strukturvorschlag. Das 2,4-Substitutionsmuster ist für Insekten ungewöhnlich und so weit bekannt wurde es bisher in der Literatur noch nicht beschrieben.

## 8 Experimenteller Teil

### 8.1 Allgemeines

**Chemikalien:** Die verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen Acros, Fluka, Merck und Sigma-Aldrich bezogen und soweit nicht anders angegeben ohne vorherige Reinigung verwendet. Reaktionen mit luft- und feuchtigkeitsempfindlichen Verbindungen wurden in ausgeheizten Apparaturen unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Die Lösungsmittel wurden nach gängigen Methoden getrocknet: THF über Kalium/Benzophenon, Diethylether über Lithiumaluminiumhydrid, Aceton über Phosphor-pentoxid, Dichlormethan über Calciumhydrid und Chloroform über Calciumchlorid. Die Reinigung und Extraktion der Naturproben erfolgte mit SupraSolv<sup>®</sup> Lösungsmitteln der Firma Merck.

**Kernresonanzspektroskopie (NMR):** <sup>1</sup>H-NMR und <sup>13</sup>C-NMR-Spektren wurden mit den Geräten AC-200-F (200 MHz für <sup>1</sup>H und 50 MHz für <sup>13</sup>C-NMR), AM-400 (400 MHz für <sup>1</sup>H- und 100 MHz für <sup>13</sup>C-NMR), DRX-400 (400 MHz für <sup>1</sup>H- und 100 MHz für <sup>13</sup>C-NMR) und AV-600 (600 MHz für <sup>1</sup>H- und 150 MHz für <sup>13</sup>C-NMR) der Firma Bruker aufgenommen. Als interner Standard wurde Tetramethylsilan (TMS,  $\delta = 0$  ppm) verwendet.

**Analytische Gaschromatographie:** Gaschromatographische Trennungen erfolgten mit einem GC8000 Top-Gaschromatographen der Firma Thermoquest mit einem Flammenionisationsdetektor. Routineuntersuchungen erfolgten mit einer Fused-Silica Kapillarsäule des Typs BPX-5 (SGE Inc., 25 m, 0.22 mm i.D., 0.25  $\mu$ m Filmdicke), für chirale GC-Experimente wurde eine Hydrodex-6-TBDMS-Kapillarsäule (Machery & Nagel, 15 m, 0.25 mm i.D.) verwendet. Als Trägergas diente Wasserstoff.

**Gaschromatographie-Massenspektrometrie:** Die Messungen erfolgten mit der Kombination GC 6890/MSD 5973 der Firma Hewlett Packard mit einer Elektronenionisati-

on von 70 eV. Für die Untersuchungen wurde eine Fused-Silica Kapillarsäule des Typs BPX-5 (SGE Inc., 25 m, 0.22 mm i.D., 0.25  $\mu$ m Filmdicke) verwendet. Als Trägergas diente Helium mit einer konstanten Strömungsgeschwindigkeit von 1 ml/min.

**Elektronensprayionisations-Massenspektrometrie:** ESI-MS Messungen wurden mit einem Finnigan MAT 95 XLT Massenspektrometer mit Direkteinlass durchgeführt. Für positive und negative Ionisation wurde ein Microspray Interface verwendet.

**Spezifische optische Aktivität:** Die Drehwertbestimmung optisch aktiver Verbindungen erfolgte an einem „Dr. Kernchen Propol Digital Automatic Polarimeter“ in 1 cm Küvetten. Es wurde bei einer Wellenlänge von 589 nm gemessen.

**Säulenchromatographie (SC):** Die säulenchromatographische Reinigung der Produkte erfolgte an Kieselgel der Firma Fluka (Kieselgel 60, Korngröße 0,040-0,063 mm, Mesh 230-440 ASTM). Bei SC mit Aluminiumoxid als stationärer Phase wurde Aluminiumoxid der Firma Merck verwendet (Aluminiumoxid 90 Aktivitätsstufe I, Korngröße 0,063-0,200 mm, Mesh 70-230 ASTM). Die jeweilige Aktivität wurde durch Zusatz von Wasser eingestellt.

**Dünnschichtchromatographie (DC):** Für die Dünnschichtchromatographie wurde die Kieselgelfolie Polygram SIL G/UV<sub>254</sub> der Firma Macherey & Nagel verwendet. Für DC an Alox kam die DC-Folie Polygram ALOX N/UV<sub>254</sub> der Firma Macherey & Nagel zum Einsatz. Die Detektion erfolgt mit einem Molybdat-Tauchbad (10 %ige ethanolische Molybdatophosphorsäurelösung) oder in der Iodkammer.

## 8.2 Derivatisierungen

**Silylierung mit MSTFA:** Die Probensubstanz wird in 50–100  $\mu$ l Dichlormethan aufgenommen und mit 50  $\mu$ l MSTFA versetzt. Nach 30 Minuten im Heizblock bei 60 °C wird die Probe zur Entfernung von überschüssigem MSTFA im Stickstoffstrom zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird anschließend in Dichlormethan aufgenommen [104].

**Silylierung mit MSTFA/TMScI:** In einem 1 ml GC-Gläschen werden 10 Teile MSTFA und 1 Teil TMScI gemischt. Die Probe (in der Regel ein Kohlenhydrat) wird in einem anderen Gläschen in 200  $\mu$ l Pyridin aufgenommen. Dann lässt man am Rand des Probengläschens 50  $\mu$ l des MSTFA/TMScI-Gemischs einlaufen. Nach einer Stunde

bei 75 °C im Heizblock werden das Silylierungsgemisch und das Pyridin im Stickstoffstrom abgeblasen. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen [105].

**Derivatisierung mit Acetanhydrid:** Die Probensubstanz wird mit 0,2 ml Acetanhydrid/Pyridin (1:1) versetzt und 1 Stunde bei 100 °C im Heizblock erwärmt. Danach wird das Derivatisierungsgemisch im Stickstoffstrom verdampft. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen [106].

**Derivatisierung mit Diazomethan:** Zur Darstellung von Diazomethan werden 0,5 ml einer Lösung von Diazald in Diethylether/Diethylenglykolether (1:1) und 0,5 ml einer Lösung von 10 g KOH in 100 ml Wasser/Methanol (1:1) zusammengegeben. Das entstehende Diazomethan wird in eisgekühlten Diethylether eingeleitet. Die zu derivatisierende Probe wird in Diethylether aufgenommen und es wird so lange etherische Diazomethanlösung zugetropft, bis bei weiterer Zugabe keine Entfärbung mehr erfolgt.

**Derivatisierung mit DMDS:** Zu 100 µl Probenlösung werden 100 µl Dimethyldisulfid und 10 µl einer 5 %igen Iodlösung in Diethylether gegeben. Das Gemisch wird über Nacht im Heizblock bei 60 °C gehalten und anschließend wird gesättigte Natriumthiosulfatlösung zugegeben. Nach kräftigem Schütteln werden die Phasen getrennt und die wässrige Phase wird zweimal mit 100 µl Pentan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumchlorid getrocknet und anschließend wird die Probe zur Entfernung von überschüssigem Reagenz im Stickstoffstrom eingedampft. Der Rückstand wird in Pentan oder Dichlormethan aufgenommen [28].

### 8.3 Fraktionierung der Extrakte von *Chrysopa oculata*

Wenn nicht anders angegeben, wurde für die chromatographischen Trennung der Extrakte von *C. oculata* an Sephadex LH-20 eine 15 cm x 1,4 cm Glassäule verwendet, die zu 12 cm mit Sephadex LH-20 gefüllt war. Das Sephadex wurde über Nacht in Methanol gequollen.

**Probe COC 21:** Diese Probe war ein Chloroformextrakt von 1250 Individuen des 1. Larvenstadiums. Ihre chromatographische Trennung erfolgte an Sephadex LH-20. Als Laufmittel wurde Dichlormethan/Methanol 1:1 verwendet. Es wurden zunächst

32 Fraktionen á 20 Tropfen hergestellt und der Inhalt der Fraktionen wurde mittels GC-MS untersucht. Fraktionen, die dieselben Verbindungen enthielten wurden zusammengefasst. Auf diese Weise konnten sechs Fraktionen COC21a–COC21f hergestellt werden. Sie wurden in 1 ml Dichlormethan gelöst und die Hälfte dieser Fraktionen, entsprechend 625 Individuen, wurde für Biotests zur Verfügung gestellt.

**Probe COC 22:** Dieser Chloroformextrakt entsprach 1250 Individuen des 1. Larvenstadiums. Die chromatographische Trennung erfolgte an Kieselgel (650 mg, 45 mm x 5 mm). Als Laufmittel wurden Pentan, Pentan/Dichlormethangemische in den Verhältnissen 100:1, 20:1, 2:1 und 1:1, Dichlormethan und Methanol verwendet. Als Laufmittel für die ersten 10 Fraktionen wurde Pentan verwendet, und danach wurde die Polarität des Laufmittels langsam erhöht. Dann folgten 8 Fraktionen mit dem Laufmittel Dichlormethan und anschließend 20 Fraktionen mit Methanol als Laufmittel. Insgesamt wurden 48 Fraktionen á 20 Tropfen erhalten. Der Inhalt der Fraktionen wurde mittels GC-MS untersucht und Fraktionen mit gleichem Inhalt wurden vereinigt. Auf diese Weise wurden sechs Fraktionen COC22a–COC22f erhalten. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurden diese Fraktionen in 1 ml Dichlormethan gelöst. Die Hälfte dieser Lösung, entsprechend 625 Individuen, wurde für Biotests zur Verfügung gestellt.

**Probe COC 24:** Diese Probe war ein Extrakt von 1750 Larvenspuren auf Glas. Die chromatographische Fraktionierung erfolgte an Sephadex LH-20 mit Dichlormethan/Methanol 1:1 als Laufmittel. Es wurden 50 Fraktionen á 50 Tropfen hergestellt. Der Inhalt der Fraktionen wurde mit GC-MS untersucht und Fraktionen mit gleichem Inhalt wurden zusammengefasst. Auf diese Weise wurden sechs Fraktionen COC24a–COC24f erhalten. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurden die Fraktionen in 1 ml Dichlormethan gelöst. Die Hälfte dieser Lösung, entsprechend 675 Individuen, wurde für Biotests zur Verfügung gestellt.

**Probe COC 30:** Der Chloroformextrakt von 5000 Individuen des 1. Larvenstadiums wurde an Sephadex LH-20 fraktioniert. Als Laufmittel diente Dichlormethan/Methanol im Verhältnis 1:1. Es wurden 48 Fraktionen á 25 Tropfen hergestellt. Der Inhalt der Fraktionen wurde mit GC-MS untersucht und Fraktionen mit gleichem Inhalt wurden zu sieben Fraktionen COC30a–COC30g zusammengefasst. Die Fraktionen wurden in 1 ml Dichlormethan gelöst. Von dieser Lösung wurden 135  $\mu$ l entnommen (entspricht 675 Individuen), auf 500  $\mu$ l aufgefüllt und für Biotests zur Verfügung gestellt.



**Probe COC 30d:** Die Fraktion COC30d wurde an Sephadex LH-20 mit 2-Propanol als Laufmittel getrennt. Die eingesetzte Menge entspricht 4325 Individuen. Es wurden 40 Fraktionen á 25 Tropfen hergestellt. Der Inhalt der Fraktionen wurde mit GC-MS untersucht und Fraktionen gleichen Inhalts wurden zu fünf Fraktionen COC30d/I–COC30d/V zusammengefasst. Diese Fraktionen wurden in 1 ml Dichlormethan gelöst. Von dieser Lösung wurden 100 µl entnommen (entspricht 432 Individuen), auf 500 µl aufgefüllt und für Biotests zur Verfügung gestellt.

**Probe COC 30e:** Die Fraktion COC30e wurde unter den selben Bedingungen wie die Fraktion COC30d getrennt. Es wurden fünf Fraktionen COC30e/I–COC30e/V erhalten.

## 8.4 Fraktionierung der Extrakte von *Cheilomenes sexmaculata*

Wenn nicht anders angegeben, wurden für die chromatographischen Trennung der Extrakte von *C. sexmaculata* an Sephadex LH-20 eine 15 cm x 1,4 cm Glassäule verwendet, die zu 12 cm mit gequollenem Sephadex LH-20 gefüllt war. Das Sephadex wurde über Nacht in Methanol gequollen.

**Probe CSE-1:** Der Chloroformextrakt von 1500 Individuen im 1. Larvenstadium wurde an Sephadex LH-20 mit Dichlormethan/Methanol 1:1 als Laufmittel fraktioniert. Es wurden 35 Fraktionen á 20 Tropfen hergestellt. Der Inhalt der Fraktionen wurde mittels GC-MS untersucht und Fraktionen mit gleichem Inhalt wurden zu sechs Fraktionen CSE1a–CSE1f zusammengefasst. Diese Fraktionen wurden in 1 ml Dichlormethan gelöst. Von dieser Lösung wurde ein Volumen entsprechend 675 Individuen entnommen und für Biotests zur Verfügung gestellt.

**Probe CSE-2:** Diese Probe wurde nach den selben Bedingungen wie die Probe CSE-1 getrennt. Es wurden sechs Fraktionen CSE2a–CSE2f erhalten.

**Probe CSE-5:** Der Hexanextrakt von 4800 Individuen des 1. Larvenstadiums wurde an Sephadex LH-20 mit Dichlormethan/Methanol 1:1 als Laufmittel fraktioniert. Es wurden 37 Fraktionen á 20 Tropfen hergestellt, deren Inhalt mittels GC-MS untersucht wurde. Die Fraktionen mit gleichem Inhalt wurden zu sieben Fraktionen CSE5a–CSE5g

zusammengefasst und in jeweils 1 ml Dichlormethan gelöst. Von dieser Lösung wurden 200  $\mu\text{l}$ , entsprechend 960 Individuen, entnommen, auf 500  $\mu\text{l}$  aufgefüllt und für Biotests zur Verfügung gestellt.

## 8.5 Analyse von Kohlenhydraten

Zur Hydrolyse von Disacchariden wird etwas Probensubstanz in 4M Trifluoressigsäure gelöst und über Nacht bei 85 °C im Heizblock erwärmt. Danach wird die Säure im Stickstoffstrom entfernt [106]. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen und es erfolgt eine Derivatisierung mit MSTFA oder Acetanhydrid (s. 8.2).

Unter milderen Bedingungen erfolgt die Hydrolyse mit Ionenaustauscher. Zur Vorbereitung des Ionenaustauschers wird Austauscherharz (Amberlite IR-120) mit 1N HCl eine Stunde bei 80 °C erwärmt. Danach wird so lange mit Wasser gespült bis die überstehende Flüssigkeit einen pH-Wert von 7 hat. Zur Hydrolyse wird der Zucker in Wasser gelöst und mit etwas Ionenaustauscher versetzt. Nach fünf Tagen bei Raumtemperatur wird vom Ionenaustauscher abpipettiert und das Wasser wird im Stickstoffstrom abgeblasen [77]. Ein Teil des Rückstandes wird mit MSTFA derivatisiert. Ein anderer Teil wird zum Zuckeralkohol reduziert. Dazu wird der Rückstand erneut in Wasser gelöst und die Lösung mit 5 mg  $\text{NaBH}_4$  versetzt. Nach 2 Stunden bei Raumtemperatur wird überschüssiges  $\text{NaBH}_4$  durch Zugabe von 20 % Essigsäure zerstört. Die Lösung wird im Stickstoffstrom eingedampft. Borsäure wird durch Zugabe und anschließendem Verdampfen (3 mal) von Methanol als Trimethylborat entfernt [106]. Anschließend erfolgt Derivatisierung mit MSTFA.

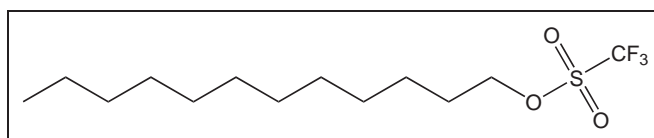
## 8.6 Anreicherung des Naturstoffs von *Pseudaletia unipuncta*

Larven des zweiten und dritten Stadiums von *Pseudaletia unipuncta* wurden 10 min. mit Hexan extrahiert. Diese Extrakte wurden anschließend säulenchromatographisch (Kieselgel, 650 mg, 45 mm x 5 mm) in mehrere Fraktionen aufgeteilt. Als Laufmittel dienten Pentan, Pentan/Dichlormethangemische in den Verhältnissen 100:1, 20:1, 10:1,

2:1, 1:1, Dichlormethan und Methanol. Die ersten 8 Fraktionen wurden mit Pentan als Laufmittel hergestellt und danach erfolgte ein langsamer Anstieg des Dichlormethan-gehaltes. Nach drei Fraktionen mit Dichlormethan als Laufmittel wurde die Säule mit Methanol gespült. Insgesamt wurden 30 Fraktionen á 30 Tropfen hergestellt. Die unbekannte Substanz (**N**) befand sich in den frühen Fraktionen (Fraktionen 4–6). Auf diese Weise wurden mehrere Hexanextrakte getrennt. Die Fraktionen, in denen die unbekannte Substanz enthalten war, wurden vereinigt.

## 8.7 Synthesen

### 8.7.1 Darstellung von Trifluormethansäuredodecylester (12)



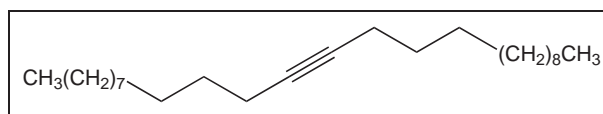
Zu einer Lösung von 1,7 g (6,10 mmol) Trifluormethansäureanhydrid in 14 ml Dichlormethan wird innerhalb von 15 min. eine Lösung von 1 g (5,67 mmol) Dodecanol in 23 ml Dichlormethan getropft. Nach 20 minütigem Rühren bei RT wird das Reaktionsgemisch auf Eis gegeben. Die organische Phase wird mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Die Reinigung mittels Säulenchromatographie (PE/Ether 19:1) ergibt 1,3 g (4,1 mmol) Trifluormethansulfonsäuredodecylester, was einer Ausbeute von 72 % entspricht [114].

$R_F = 0,6$  (Pentan/Diethylether 19:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 4.54$  (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-O-}$ ), 1.83 (quint,  $J = 6.9$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OSO}_2-$ ), 1.45–1.36 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 1.46–1.22 (m, 18H, Alkylkette), 0.88 (t,  $J = 6.4$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3-$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (50MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 121.1$  (s,  $\text{CF}_3-$ ), 77.0 (t,  $-\text{CH}_2\text{-SO}_2-$ ), 31.2, 28.9, 28.7, 28.6, 28.5, 28.1, 25.5, 24.3, 22.0 (t, Alkylkette), 13.3 (q,  $\text{CH}_3-$ ).

### 8.7.2 Darstellung von 12-Pentacosin (13)



Bei Raumtemperatur werden zu einer Lösung von 100 mg (0,55 mmol) 1-Tridecin in 0,8 ml THF und 0,4 ml DMPU 0,4 ml Butyllithiumlösung (Pentan,  $c = 1,6$  mol/l) getropft und anschließend wird über Nacht gerührt. Danach wird eine Lösung von 177 mg (0,55 mmol) Trifluormethansäuredodecylester in 1,5 ml THF zugegeben und das Reaktionsgemisch wird 4 d bei RT gerührt. Dann wird Ammoniumchloridlösung zugegeben und anschließend mit Pentan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel abdestilliert. Die Reinigung erfolgt mit SC (Laufmittel Pentan).

Es wird ein Gemisch aus unumgesetzten Tridecin und Pentacosin erhalten, was mit Säulenchromatographie nicht weiter getrennt werden kann. Dieses Gemisch wird mit verdünnter Silbernitratlösung versetzt und geschüttelt, wobei sich schwerlösliches Tridecylsilber bildet. Die Silbernitratlösung wird mit Pentan extrahiert und das Tridecylsilber mit Pentan gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird abdestilliert. Es werden 48 mg 12-Pentacosin erhalten, was einer Ausbeute von 25 % entspricht [29].

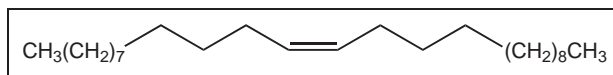
$R_F = 0,61$  (Pentan)

**$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 2.17\text{--}2.10$  (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CCH}_2$ ), 1.50–1.26 (m, 38H, Alkylketten), 0.91–0.85 (m, 6H,  $\text{CH}_3$ -).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (50MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 80.2$  (s,  $\text{C}\equiv\text{C}$ ), 31.9, 29.7, 29.6, 29.4, 29.2, 28.9, 22.7, 18.8 (t, Alkylkette), 14.1 (q,  $\text{CH}_3$ -).

**EI-MS,  $m/z$  (%):** 348 (3)  $[\text{M}^+]$ , 250 (5), 235 (5), 193 (7), 179 (10), 137 (13), 123 (26), 109 (45), 95 (87), 81 (100), 67 (80), 55 (62), 43 (72).

### 8.7.3 Darstellung von (Z)-12-Pentacosen (10)



Durch eine Lösung von 25 mg (0,071 mmol) 12-Pentacosin (**13**) in 1 ml Pentan, die mit einer katalytischen Menge Pd-BaSO<sub>4</sub> und 15 µl Chinolin versetzt ist, wird Wasserstoffgas geleitet. Nach 90 min. wird der Katalysator abfiltriert und das Filtrat eingengt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel Pentan). Es werden 17 mg (0,048 mmol) (Z)-12-Pentacosen erhalten, was einer Ausbeute von 69 % entspricht. Das (E)-Isomer ist zu weniger als 2 % entstanden.

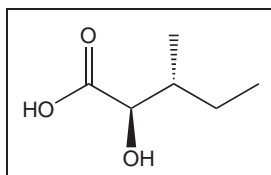
$R_F = 0,9$  (Pentan)

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ[ppm] = 5.36–5.33 (m, 2H, CH=CH), 2.04–1.99 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>), 1.34–1.32 (m, 38H, Alkylketten), 0.88 (t, *J* = 6.9 Hz, 6H, CH<sub>3</sub>-).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ[ppm] = 129.9 (d, CH=CH), 31.9, 29.8, 29.7, 29.7, 29.6, 29.4, 29.3, 27.2, 22.7 (t, Alkylketten), 14.1 (q, CH<sub>3</sub>-).

EI-MS, *m/z* (%): 350 (14) [M<sup>+</sup>], 210 (2), 139 (13), 125 (31), 111 (58), 97 (100), 83 (92), 69 (74), 57 (84), 55 (80), 43 (81).

### 8.7.4 Darstellung von (2R,3R)-2-Hydroxy-3-methylpentansäure (24)



Es werden 233 mg (1,51 mmol) käuflich erhältliches Natrium-(2R,3R)-2-Hydroxy-3-methylpentanat in Wasser gelöst und mit 2N Salzsäure angesäuert. Anschließend werden das Wasser und die Säure durch Gefriertrocknen entfernt und der Rückstand in Diethylether aufgenommen. Es wird von Natriumchlorid abfiltriert und der Ether verdampft. Die 2-Hydroxy-3-methylvaleriansäure wird ohne weitere Reinigung verwendet.

Es werden 179 mg (1,36 mmol) (2*R*,3*R*)-2-Hydroxy-3-methylpentansäure erhalten, was einer Ausbeute von 90 % entspricht.

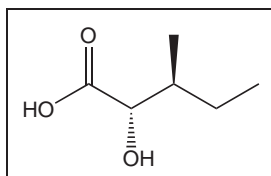
$$[\alpha]_D^{20} = -10,5 \text{ (c = 3.8, Diethylether)}$$

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ[ppm] = 4.19 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, CH(OH)), 1.94–1.84 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH), 1.49–1.39 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.37–1.20 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.03 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH), 0.93 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ[ppm] = 179.3 (s, -COOH), 74.6 (d, CH(OH)), 38.9 (d, CHCH<sub>3</sub>), 23.7 (t, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 15.3 (q, CH<sub>3</sub>CH), 11.7 (q, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

**EI-MS (TMS Derivat), *m/z* (%):** 261 (4) [M<sup>+</sup>-15], 233 (7), 159 (83), 147 (58), 133 (13), 117 (10), 103 (16), 73 (100), 59 (9), 45 (18).

### 8.7.5 Darstellung von (2*S*,3*S*)-2-Hydroxy-3-methylpentansäure (23)

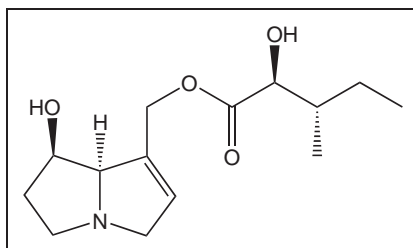


Die (2*S*,3*S*)-2-Hydroxy-3-methylpentansäure wird nach der selben Vorschriften wie die (2*R*,3*R*)-2-Hydroxy-3-methylpentansäure hergestellt. Aus 220 mg (1,43 mmol) Natriumsalz werden 145 mg (1,10 mmol) Säure erhalten, was einer Ausbeute von 77 % entspricht.

$$[\alpha]_D^{20} = +9,4 \text{ (c = 2.4, Diethylether)}$$

Die spektroskopischen Daten entsprechen denen der (2*R*,3*R*)-2-Hydroxy-3-methylpentansäure.

## 8.7.6 Darstellung von (2'S,3'S)-Creatonotin B (21a)



Eine Lösung von 54,5 mg (0,34 mmol) 1,1'-Carbonyldiimidazol und 42,5 mg (0,32 mmol) (2*S*,3*S*)-2-Hydroxy-3-methylpentansäure (**23**) in 4 ml trockenem Chloroform wird 15 min. unter Stickstoff gerührt, um eine vollständige CO<sub>2</sub>-Entwicklung zu gewährleisten. Anschließend werden 51,5 mg (0,33 mmol) Retronecin zugegeben und die Lösung wird 20 h bei RT gerührt. Die Lösung wird mit 2,5 ml ges. Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und die wässrige Phase mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt. Die Reinigung erfolgt mit SC auf Aktivität III Alox (Laufmittel 1 % Methanol/Chloroform bis 5 % Methanol/Chloroform). Es werden 39 mg (0,14 mmol) (2'*S*,3'*S*)-Creatonotin B erhalten, was einer Ausbeute von 45 % entspricht [61]. Es bildete sich selektiv der O<sup>9</sup>-Ester.

$R_F = 0,125$  (Methanol/Chloroform 1:9)

$[\alpha]_D^{20} = +15,6$  ( $c = 0.5$ , Dichlormethan)

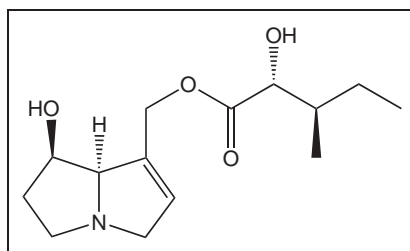
**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$ [ppm] = 5.82 (br s, 1H, CH=CCH<sub>2</sub>O), 4.86 (*d*,  $J = 13$  Hz, 1H), 4.73 (*d*,  $J = 13$  Hz, 1H, CH=CCH<sub>2</sub>O), 4.29 (br s, 1H, COOCH(OH)), 4.19 (br s, 1H, CH<sub>2</sub>CH(OH)CH), 4.10 (*d*,  $J = 4,3$  Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>CH), 3.96–3.92 (m, 1H, CH(OH)CHN), 3.46–3.40 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>CH), 3.31–3.27 (m, 1H), 2.78–2.73 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.06–1.92 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.85–1.79 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1.52–1.40 (m, 1H), 1.39–1.20 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 0.98 (*d*,  $J = 7.0$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH), 0.90 (*t*,  $J = 7.5$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$ [ppm] = 174.5 (s, COO), 133.1 (s, CH<sub>2</sub>C=CH), 129.2 (d, CH<sub>2</sub>C=CH), 78.2 (d, CHN), 75.1 (d, COOCH(OH)), 70.9 (d, CH<sub>2</sub>CH(OH)),

62.6 (t, NCH<sub>2</sub>CH), 61.9 (t, CH=CCH<sub>2</sub>), 53.8 (t, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 39.0 (d, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 36.1 (t, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 23.8 (t, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 15.4 (q, CH<sub>3</sub>CH), 11.6 (q, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

**EI-MS (TMS Derivat), *m/z* (%)**: 413 [M<sup>+</sup>](2), 297 (2), 210 (100), 159 (27), 136 (9), 120 (15), 94 (82), 73 (15).

### 8.7.7 Darstellung von (2'*R*,3'*R*)-Creatonotin B (21b)



Die Darstellung von (2'*R*,3'*R*)-Creatonotin B erfolgt nach der selben Vorschrift wie die Darstellung von (2'*S*,3'*S*)-Creatonotin B. Aus 48,5 mg (0,3 mmol) Carbonyldiimidazol, 38 mg (0,29 mmol) (2*R*,3*R*)-2-Hydroxy-3-methylpentansäure (**24**) und 45,8 mg (0,3 mmol) Retronecin werden 49 mg (0,18 mmol) (2'*R*,3'*R*)-Creatonotin B erhalten, was einer Ausbeute von 64 % entspricht [61]. Als Nebenprodukte entstanden der O<sup>7</sup>-Ester (12 %) und der Diester (11 %).

**R<sub>F</sub>** = 0,1 (Methanol/Chloroform 1:9)

**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>** = +18,2 (c = 0.47, Dichlormethan)

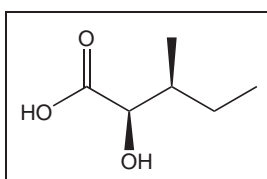
**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ[ppm] = 5.88 (*d*, *J* = 1.2 Hz, 1H, CH=CCH<sub>2</sub>O), 4.81 (*d*, *J* = 9.9 Hz, 2H, CH=CCH<sub>2</sub>O), 4.28 (*d*, *J* = 2.1 Hz, 1H, COOCH(OH)), 4.17–4.15 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH(OH)CH), 4.13 (*d*, *J* = 4.3 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>CH), 3.96–3.91 (m, 1H, CH(OH)CHN), 3.45–3.40 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>CH), 3.30–3.26 (m, 1H), 2.78–2.64 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.21–1.91 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.86–1.78 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1.55–1.37 (m, 1H), 1.26 (*t*, *J* = 7.1 Hz, 1H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 0.99 (*d*, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH), 0.91 (*t*, *J* = 7.5 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).



**$^{13}\text{C}$ -NMR (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 174.5$  (s,  $\text{COO}$ ),  $132.8$  (s,  $\text{CH}_2\text{C}=\text{CH}$ ),  $130.0$  (d,  $\text{CH}_2\text{C}=\text{CH}$ ),  $78.4$  (d,  $\text{CHN}$ ),  $75.1$  (d,  $\text{COOCH}(\text{OH})$ ),  $71.2$  (d,  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})$ ),  $62.9$  (t,  $\text{NCH}_2\text{CH}$ ),  $62.1$  (t,  $\text{CH}=\text{CCH}_2$ ),  $53.9$  (t,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ),  $39.2$  (d,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2$ ),  $36.1$  (t,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ),  $23.9$  (t,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ),  $15.4$  (q,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ),  $11.7$  (q,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ).

**EI-MS (TMS Derivat),  $m/z$  (%):** 413 [ $\text{M}^+$ ](1), 297 (2), 210 (94), 159 (29), 136 (11), 120 (19), 94 (100), 73 (70).

### 8.7.8 Darstellung von (2*R*,3*S*)-2-Hydroxy-3-methylpentansäure



In einem Gemisch aus 0,5 ml 1N Salzsäure, 2 ml Wasser und 1 ml Eisessig werden 65 mg (0,5 mmol) D-allo-Isoleucin gelöst. Die Lösung wird auf 5 °C abgekühlt und anschließend wird eine Lösung von 350 mg (5 mmol) Natriumnitrit in 0,6 ml Wasser langsam zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird eine Stunde bei 5 °C gerührt und danach über Nacht bei RT. Nach Zugabe von 0,5 ml konzentrierter Salzsäure wird die Lösung mit Natriumchlorid gesättigt und anschließend dreimal mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und der Ether abdestilliert. Der Rückstand wird im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt. Als Laufmittel wird Ether/Pentan/Eisessig 20:10:1 verwendet. Es werden 53 mg (0,4 mmol) (2*R*,3*S*)-2-Hydroxy-3-methylpentansäure erhalten, was einer Ausbeute von 80 % entspricht [112].

$R_F = 0,74$  (Ether/Pentan/Eisessig 20:10:1)

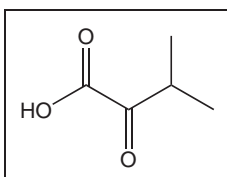
$[\alpha]_D^{20} = -9,2$  ( $c = 2,2$ , Diethylether)

**$^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 4.30$  (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}(\text{OH})$ ),  $1.94$ – $1.84$  (m, 1H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}$ ),  $1.63$ – $1.47$  (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ),  $1.42$ – $1.32$  (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ),  $0.97$  (t,  $J = 7.4$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ),  $0.88$  (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 179.9$  (s, -COOH), 72.8 (d, CH(OH)), 38.3 (d, CHCH<sub>3</sub>), 25.9 (t, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 13.1 (q, CH<sub>3</sub>CH), 11.7 (q, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

**EI-MS (TMS Derivat),  $m/z$  (%):** 261 (6) [ $\text{M}^+ - 15$ ], 233 (10), 159 (100), 147 (67), 133 (15), 117 (10), 103 (17), 73 (93), 59 (9), 45 (16).

### 8.7.9 Darstellung von 2-Oxoisovaleriansäure (37)



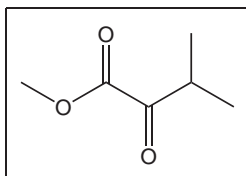
Es werden 210 mg (1,5 mmol) Natrium-2-oxoisovaleriat in Wasser gelöst und die Lösung wird mit 2N Salzsäure angesäuert. Anschließend wird die Lösung mit Ether extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird abdestilliert. Die Säure wird ohne weitere Reinigung verwendet. Es werden 145 mg (1,2 mmol) 2-Oxoisovaleriansäure erhalten, was einer Ausbeute von 83 % entspricht.

**$^1\text{H}$ -NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 8.01$  (br s, 1H), 3.41 (sept,  $J = 7.1$  Hz, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>3</sub>), 1.20 (d,  $J = 7.0$  Hz, 6H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>3</sub>).

**$^{13}\text{C}$ -NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 199.1$  (s, COOH), 160.7 (s, COOH C(O)), 35.8 (d, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>3</sub>), 17.3 (q, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>3</sub>).

**EI-MS (TMS-Derivat),  $m/z$  (%):** 188 (0.1) [ $\text{M}^+$ ], 173 (0.4), 144 (3), 129 (15), 117 (2), 101 (7), 73 (100), 58 (3), 43 (16).

### 8.7.10 Darstellung von 2-Oxovaleriansäuremethylester



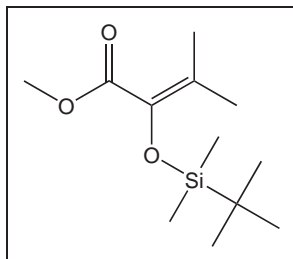
Zur Herstellung einer etherischen Diazomethanlösung werden in einer Mikrodestillationsapparatur 3,65 g (17 mmol) *N*-Methyl-*N*-nitroso-*p*-toluolsulfonsäureamid in einer Mischung aus 3,5 ml Diethylether und 3,5 ml Diethylenglykolmonoethylether gelöst. Dazu wird eine Lösung von 1,1 g (18,9 mmol) Kaliumhydroxid in 3,5 ml Methanol und 3,5 ml Wasser gegeben. Über einen Teflonschlauch mit zwischengeschaltetem Waschfläschchen wird das entstehende Diazomethan in 5 ml eisgekühlten Diethylether eingeleitet. Anschließend werden 100 mg (0,86 mmol) 2-Oxoisovaleriansäure (**37**) in 2 ml Diethylether gelöst und mit der hergestellten etherischen Diazomethanlösung so lange versetzt, bis eine leichte Gelbfärbung bestehen bleibt. Das Lösungsmittel wird abdestilliert. Der erhaltene Ester kann ohne weitere Aufreinigung eingesetzt werden. Es werden 100 mg (0,77 mmol) erhalten, was einer Ausbeute von 90 % entspricht [98].

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>/TMS):**  $\delta$ [ppm] = 3.87 (s, 3H, CH<sub>3</sub>OOC), 3.28 (sept,  $J$  = 7.0 Hz, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>3</sub>), 1.17 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 6H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$ [ppm] = 197.8 (s, COOCH<sub>3</sub>), 162.1 (s, COOH C(O)), 52.7 (q, CH<sub>3</sub>OOC), 37.0 (d, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>3</sub>), 17.1 (q, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>3</sub>).

**EI-MS,  $m/z$  (%):** 130 (3) [M<sup>+</sup>], 87 (1.), 71 (53), 59 (14), 43 (100).

#### 8.7.11 Darstellung von Methyl-2-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-3-methylbut-2-enoat



Zu einer Lösung von 100 mg (0,77 mmol) 2-Oxovaleriansäuremethylester und 116,4 mg (1,15 mmol) Triethylamin in 2 ml Dichlormethan werden 304 mg (1,15 mmol) *tert*-Butyldimethylsilyltriflat gegeben. Der Reaktionsverlauf wird mittels DC verfolgt. Nach Reaktionsende wird mit Dichlormethan verdünnt und mit kalter Natriumcarbonatlö-

sung gewaschen. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet und eingengt. Der Rückstand wird in Diethylether aufgenommen und das unlösliche Triethylammoniumtriflat wird abfiltriert. Der Ether wird abdestilliert und das Rohprodukt mit SC (Pentan/Diethylether 9:1) gereinigt. Es werden 147 mg (0,60 mmol) Enolsilylether erhalten, was einer Ausbeute von 78 % entspricht [115].

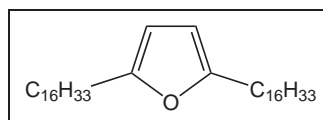
$R_F = 0,81$  (Pentan/Diethylether 9:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 3.63$  (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{OOC}$ ), 1.92 (s, 6H,  $\text{CH}_3\text{CCH}_3$ ), 0.87 (s, 9H,  $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ), 0.00 (s, 6H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (50MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 165.0$  (s,  $\text{COOCH}_3$ ), 135.1 (s,  $\text{C}=\text{COSi}$ ), 128.7 (s,  $\text{C}=\text{COSi}$ ), 50.4 (q,  $\text{CH}_3\text{OOC}$ ), 25.1 (q,  $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ), 19.7 (q,  $\text{CH}_3\text{CCH}_3$ ), 17.8 (s,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), -5.1 (q,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ ).

**EI-MS,  $m/z$  (%):** 229 (3)[ $\text{M}^+-15$ ], 187 (100), 159 (14), 129 (4), 89 (89), 73 (18), 59 (20), 41 (7).

### 8.7.12 Darstellung von 2,5-Dihexadecylfuran (47)



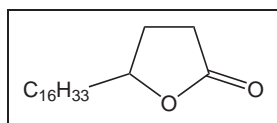
Zu einer Lösung von 1,12 g (16,5 mmol) frisch destilliertem Furan in 6 ml THF werden 11,8 ml (20 mmol) einer 1,7 M *tert*-Butyllithiumlösung in Pentan innerhalb von 30 min. bei -40 °C zugetropft. Es wird 1,5 h bei -40 °C weitergerührt. Danach wird eine Lösung von 5,5 g (18 mmol) 1-Bromhexadecan in 3 ml THF langsam zugegeben. Das Gemisch wird über Nacht bei RT gerührt.

Anschließend werden bei -40 °C erneut 11,8 ml (20 mmol) einer 1,7 M *tert*-Butyllithiumlösung in Pentan innerhalb von 30 min. zugetropft. Es wird 1,5 h bei -40 °C weitergerührt und eine Lösung von 5,5 g (18 mmol) 1-Bromhexadecan in 3 ml THF wird langsam zugegeben. Die Reaktionslösung wird über Nacht bei RT gerührt und dann mit Wasser verdünnt. Es wird mit Diethylether und Pentan extrahiert und die organische

Phase über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und das Rohprodukt mit SC (Laufmittel Pentan) gereinigt [98].

Es werden 1,79 g eines Gemisches aus 2-Hexadecylfuran (1,62 g, 5,5 mmol, 33 %) und 2,5-Dihexadecylfuran (0,15 g, 0,28 mmol, 2 %) erhalten, welches nicht durch SC aufgetrennt werden kann.

### 8.7.13 Darstellung von 4-Eicosanolid (51)



Eine Suspension von 1,45 g (30 mmol) Natriumhydrid in 44 ml Dimethylacetamid wird unter Rühren mit einer Lösung von 4,8 g (30 mmol) Diethylmalonat in 10 ml Dimethylacetamid versetzt. Die Reaktionslösung wird 1 h gerührt und es wird eine Lösung von 2,7 g (10 mmol) 2-Hexadecyloxiran in 11 ml Dimethylacetamid zugegeben. Die Reaktionslösung wird 3 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend mit 2 g (10 mmol) Magnesiumchloridhexahydrat versetzt. Es wird 20 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen der Reaktionsmischung auf RT wird Eiswasser zugegeben und mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird mit Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt mit SC (Laufmittel Pentan/Ether 1:1). Es werden 870 mg (2,81 mmol) 4-Eicosanolid erhalten, was einer Ausbeute von 28 % entspricht [107].

$R_F = 0,57$  (Pentan/Ether 1:1)

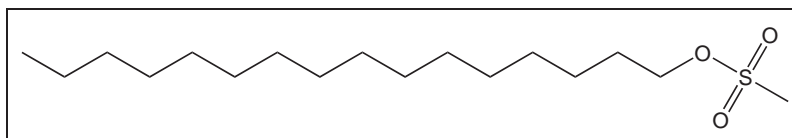
**$^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 4.48$  (quint,  $J = 6.9$  Hz, 1H, -CHR-O-), 2.55–2.50 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>C(O)), 2.36–2.27 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)), 1.90–1.82 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)), 1.75–1.69 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>), 1.62–1.55 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>), 1.50–1.26 (m, 28H, Alkylkette), 0.88 (t,  $J = 6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>-).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 177.2$  (s, C=O), 81.0 (d, RCH-O-), 35.6, 34.1, 31.9, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 28.8, 28.0, 25.2, 22.6, 22.3 (t, Alkylkette),

14.1 (q, CH<sub>3</sub>).

**EI-MS,  $m/z$  (%):** 292 (4) [M<sup>+</sup>-18], 248 (2), 111 (7), 97 (10), 85 (100), 69 (15), 55 (33), 41 (44).

#### 8.7.14 Darstellung von Methansulfonsäurehexadecylester



In 30 ml trockenem Dichlormethan werden 2,42 g (10 mmol) 1-Hexadecanol gelöst und mit 2,5 ml (18 mmol) Triethylamin versetzt. Unter Rühren werden 1,95 g (17 mmol) Methansulfonsäurechlorid so langsam zugetropft, dass die Innentemperatur nicht über 30 °C steigt. Nach 2 h Rühren bei RT wird mit demselben Volumen an eiskaltem Wasser ausgeschüttelt und die org. Phase nacheinander zweimal mit je 10 ml 2N HCl, 10 ml Wasser, 10 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 10 ml Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbleibende Rückstand aus Ethanol umkristallisiert. Es werden 3 g (9,4 mmol) Methansulfonsäurehexadecylester erhalten, was einer Ausbeute von 94 % entspricht [108].

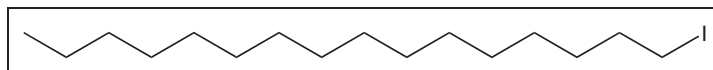
$R_F = 0,5$  (Pentan/Diethylether/Eisessig 60:40:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$ [ppm] = 4.22 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>O-), 2.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-SO<sub>2</sub>-), 1.75 (quint,  $J = 7.0$  Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OSO<sub>2</sub>-), 1.40–1.26 (m, 27H, Alkylkette), 0.88 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>-).

**<sup>13</sup>C-NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$ [ppm] = 70.2 (t, -CH<sub>2</sub>-O-), 53.7 (q, CH<sub>3</sub>-SO<sub>2</sub>-), 37.3, 31.9, 29.6, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.1, 29.0, 25.4, 22.6 (t, Alkylkette), 14.1 (q, CH<sub>3</sub>-).

**EI-MS,  $m/z$  (%):** 224 (3), 196 (3), 125 (10), 109 (34), 97 (56), 83 (44), 79 (68), 69 (54), 55 (89), 41 (100).

### 8.7.15 Darstellung von 1-Iodhexadecan



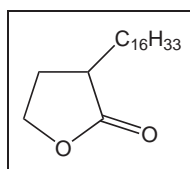
Zu einer Lösung von 3,05 g (10 mmol) Hexadecylbromid in 10 ml trockenem Aceton werden 2,7 g (18 mmol) Natriumiodid gegeben. Nach sechsstündigem Rühren unter Rückfluss werden Diethylether und Wasser zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumthiosulfatlösung, Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknung über Magnesiumsulfat wird der Ether abdestilliert. Das Produkt wird ohne weitere Reinigung verwendet. Es werden 3,5 g (10 mmol) Hexadecyliodid erhalten, was einem quantitativen Umsatz entspricht [109].

**$^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 3.18$  (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-I}$ ), 1.82 (quint,  $J = 7.2$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$ ), 1.40–1.36 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 1.30–1.26 (m, 26H, Alkylkette), 0.88 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3-$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 33.3, 31.7, 30.2, 29.4, 29.3, 29.3, 29.2, 29.1, 29.0, 28.2, 22.4$  (t, Alkylkette), 13.8 (q,  $\text{CH}_3-$ ), 6.9 (t,  $-\text{CH}_2-$ ).

**EI-MS,  $m/z$  (%):** 352 (1)  $[\text{M}^+]$ , 225 (16), 183 (3), 169 (6), 155 (19), 141 (6), 127 (10), 113 (10), 99 (13), 85 (41), 71 (54), 57 (89), 43 (100).

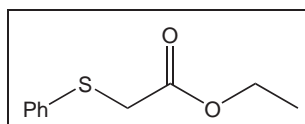
### 8.7.16 Darstellung von 2-Hexadecyl-4-butanolid



Es werden 152 mg (1,5 mmol) Diisopropylamin in 600  $\mu\text{l}$  THF vorgelegt und 0,63 ml einer 1,6 M-Lösung von n-BuLi in Hexan zugetropft. Nach 10 minütigem Rühren werden im Vakuum alle Lösungsmittel und leichtflüchtigen Komponenten verdampft, bis ein Feststoff übrig bleibt. Dieser wird mit 1 ml THF aufgenommen, so dass eine 1 M Lösung von LDA in THF resultiert. Bei  $-78^\circ\text{C}$  wird eine Lösung von 86 mg (1 mmol)

$\gamma$ -Butyrolacton in 1 ml THF langsam zugetropft. Nach 90 minütigem Rühren werden 387 mg (1,1 mmol) Hexaacyliodid gelöst in 1 ml THF und 218 mg (1,2 mmol) HMPA bei  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  zugegeben. Es wird 3 h bei  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  und dann 5 d bei RT gerührt. Es wird mit gesättigter Ammoniumchloridlösung hydrolysiert, mit 2N HCl angesäuert und mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wird das Lösungsmittel abdestilliert. Die Reinigung erfolgt mit SC (Laufmittel Pentan/Ether 1:1). Es werden weniger als 12 mg 3-Hexadecyl-dihydrofuran-2-on erhalten, was einer Ausbeute von weniger als 4 % entspricht [110].

### 8.7.17 Darstellung von Ethyl-(phenylthio)acetat (57)



Es werden 1,75 g (10,4 mmol) (Phenylthio)essigsäure mit 2,4 g (52 mmol) Ethanol vorgelegt und mit 0,26 g (0,14 ml) konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 5 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Im Anschluss wird das überschüssige Ethanol abdestilliert und der Rückstand auf eine fünffache Menge Eiswasser gegeben. Das Gemisch wird mit Diethylether angereichert, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit konzentrierter Natriumhydrogencarbonatlösung neutral gewaschen. Anschließend wird mit Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Die verbleibenden Lösungsmittel werden abdestilliert. Eine weitere Reinigung des Produktes ist nicht nötig. Es werden 1,92 g (9,8 mmol) Ethyl-(phenylthio)acetat erhalten, was einer Ausbeute von 95 % entspricht [111].

$R_F = 0,32$  (Pentan/Diethylether 2:1).

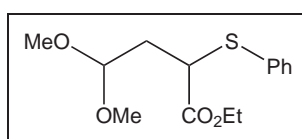
$^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta[\text{ppm}] = 7.42\text{--}7.19$  (m, 5H, PhH), 4.15 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 3.63 (s, 2H,  $\text{SCH}_2\text{COOR}$ ), 1.21 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).



$^{13}\text{C}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta[\text{ppm}] = 169.6$  (q, COOR), 134.9 (d, Aromat CS), 129.9 (d, Aromat m-CH), 128.9 (d, Aromat o-CH), 126.9 (d, Aromat p-CH), 61.4 (t,  $\text{RCOOCH}_2$ ), 36.6 (t,  $\text{SCH}_2\text{COOR}$ ), 14.0 (q,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

EI-MS,  $m/z$  (%): 96 (50)  $[\text{M}^+]$ , 123 (100), 109 (14), 77 (15), 45 (32).

### 8.7.18 Darstellung von Ethyl-4,4-dimethoxy-2-(thiophenyl)-butyrat (58)



Zu einer Suspension von 300 mg (12,5 mmol) NaH in 7,5 ml Dimethylformamid (DMF) werden 2,3 g (11,7 mmol) Ethyl-(phenylthio)acetat (**57**) in 4 ml DMF getropft. Das Reaktionsgemisch wird auf 60 °C erhitzt. Nach ca. 15 Minuten werden 2,1 g (12,4 mmol) Bromacetaldehyddimethylacetal in 4 ml DMF zugegeben. Das Gemisch wird bei 60 °C 3 Stunden und anschließend bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Ausgefallene Substanzen werden abfiltriert. Das Filtrat wird eingeeengt und mit einer Pufferlösung pH 7,2 (Phosphatpuffer 0,1 M) behandelt. Die Lösung wird mit Ethylacetat angereichert, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und die verbleibenden Lösemittel abdestilliert. Das Produkt wird säulenchromatographisch an Flashgel gereinigt. Als Laufmittel dient eine Mischung Pentan/Diethylether 3:1. Es werden 1,63 g (5,7 mmol) Ethyl-4,4-dimethoxy-2-(thiophenyl)butyrat erhalten, was einer Ausbeute von 49 % entspricht [100].

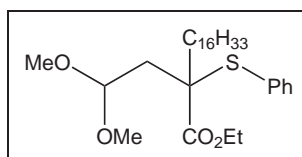
$R_F = 0,4$  (Pentan/Diethylether 3:1).

$^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta[\text{ppm}] = 7.48\text{--}7.27$  (m, 5H, PhH), 4.53 (t,  $J = 5.7$  Hz, 1H,  $\text{CH}(\text{OR})_2$ ), 4.11 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 3.75 (dd,  $J = 6.5$  Hz, 8.5 Hz, 1H,  $\text{SCHCOOR}$ ), 3.31 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.31 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.27–2.20 (m, 1H,  $(\text{RO})_2\text{CHCHHCHS}$ ), 2.05–1.98 (m, 1H,  $(\text{RO})_2\text{CHCHHCHS}$ ), 1.17 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

**$^{13}\text{C}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 171.8$  (s,  $\text{COOR}$ ), 133.2 (d, Aromat m-CH), 132.9 (d, Aromat CS), 128.9 (d, Aromat o-CH), 128.1 (d, Aromat p-CH), 102.4 (d,  $\text{CH}(\text{OR})_2$ ), 61.1 (t,  $\text{RCOOCH}_2$ ), 53.7 (t,  $\text{OCH}_3$ ), 53.2 (q,  $\text{OCH}_3$ ), 46.5 (d,  $\text{SCHCOOR}$ ), 34.7 (t,  $(\text{RO})_2\text{CHCH}_2\text{CHS}$ ), 14.0 (q,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

**EI-MS,  $m/z$  (%):** 284 (9)  $[\text{M}^+]$ , 220 (15), 206 (15), 143 (18), 109 (18), 75 (100).

### 8.7.19 Darstellung von 2-(2,2-Dimethoxyethyl)-2-thiophenyl-octadecansäureethylester (59)



Es werden 410 mg (17,1 mmol) NaH in 42 ml DMF vorgelegt und unter Rühren auf 60 °C erwärmt. Zu der Suspension werden 4 g (14 mmol) **58** in 14 ml DMF zuge tropft. Nach 10 Minuten Rühren bei 60 °C werden 5,2 g (15 mmol) 1-Hexadecyliodid in 14 ml DMF zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 4 Stunden bei 60 °C und anschließend bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Die Lösung wird eingeeengt und mit einem Phosphatpuffer (pH 7,2, 0,1 M) behandelt. Das Gemisch wird mit Ethylacetat angereichert und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und die verbleibenden Lösungsmittel abdestilliert. Das Produkt wird säulenchromatographisch an Flashgel gereinigt. Als Laufmittel wird eine Mischung Pentan/Diethylether 5:1 verwendet. Dabei ergibt sich eine Mischfraktion, die erneut säulenchromatographisch getrennt wird. Als Laufmittel wird eine Mischung aus Pentan/Diethylether im Verhältnis 9:1 verwendet. Es werden 4 g (8 mmol) 2-(2,2-Dimethoxyethyl)-2-thiophenyl-octadecansäureethylester erhalten, was einer Ausbeute von 57 % entspricht [100].

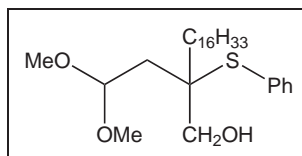
$\mathbf{R}_F = 0,41$  (Pentan/Diethylether 5:1),  $\mathbf{R}_F = 0,26$  (Pentan/Diethylether 9:1)

**$^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 7.46\text{--}7.26$  (m, 5H, PhH), 4.76 (t,  $J = 5.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}(\text{OR})_2$ ), 4.11 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 3.32 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.31 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.12 (dd,  $J = 14.6$  Hz,  $J = 5.6$  Hz, 1H,  $(\text{RO})_2\text{CHCHHCHS}$ ), 2.01 (dd,  $J = 14.6$  Hz,  $J = 4.9$  Hz, 1H,  $(\text{RO})_2\text{CHCHHCHS}$ ), 1.70–1.26 (m, 30H, Alkylkette), 1.22 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 0.88 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**$^{13}\text{C}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 172.6$  (s, COOR), 136.9 (d, Aromat m-CH), 130.7 (q, Aromat CS), 129.3 (d, Aromat p-CH), 128.7 (d, Aromat o-CH), 102.4 (d,  $\text{CH}(\text{OR})_2$ ), 61.0 (t,  $\text{RCOOCH}_2$ ), 58.2 (s, S $\text{CCOOR}$ ), 53.5 (q,  $\text{OCH}_3$ ), 53.1 (q,  $\text{OCH}_3$ ), 37.7 (t,  $(\text{RO})_2\text{CHCH}_2\text{CHS}$ ), 34.4, 34.1, 31.9, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 24.1, 22.7, 22.3, 15.2, 14.1 (t, Alkylkette), 14.0 (q,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

**EI-MS,  $m/z$  (%):** 508 (3) [ $\text{M}^+$ ], 367 (11), 325 (6), 109 (8), 75 (100)

### 8.7.20 Darstellung von 2-(2,2-Dimethoxyethyl)-2-thiophenyl-octadecanol (60)



Es werden 300 mg (7,9 mmol)  $\text{LiAlH}_4$  in 55 ml absolutem Diethylether vorgelegt. Anschließend werden 4 g (8 mmol) **59** zugegeben. Nach einer Stunde Rühren bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch mit dem gleichen Volumen an konzentrierter Natronlauge versetzt. Die Lösung wird mit Diethylether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert und das Produkt säulenchromatographisch an Flashgel gereinigt. Als Laufmittel dient ein Pentan/Diethylethergemisch im Verhältnis 2:1. Es werden 3,13 g (6,7 mmol) 2-(2,2-Dimethoxyethyl)-2-thiophenyl-octadecanol erhalten was einer Ausbeute von 84 % entspricht [100].

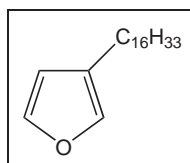
$R_F = 0,47$  (Pentan/Diethylether = 2:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 7.52\text{--}7.30$  (m, 5H, PhH), 4.77 (t,  $J = 5.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}(\text{OR})_2$ ), 3.36 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.36 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.33 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2.29 (dd,  $J = 14.1$  Hz,  $J = 5.6$  Hz, 1H,  $(\text{RO})_2\text{CHCHH}$ ), 2.23 (dd,  $J = 14.1$  Hz,  $J = 5.7$  Hz, 1H,  $(\text{RO})_2\text{CHCHH}$ ), 1.56–0.86 (m, 30H, Alkylkette), 0.88 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ -)

**$^{13}\text{C-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 137.6$  (Aromat), 136.8 (Aromat), 136.1 (Aromat), 128.8 (Aromat), 102.0 (d,  $\text{CH}(\text{OR})_2$ ), 59.8 (s,  $\text{SCCH}_2\text{OH}$ ), 53.4 (q,  $\text{OCH}_3$ ), 52.5 (q,  $\text{OCH}_3$ ), 42.7 (t,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ) 38.7 (t,  $(\text{RO})_2\text{CHCH}_2$ ), 31.9, 29.9, 29.8, 29.7, 29.7, 29.5, 29.4, 25.6, 23.5, 22.7 (t, Alkylkette), 14.1 (q,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

**EI-MS,  $m/z$  (%):** 434 (12), 325 (100), 293 (18), 110 (35), 109 (34), 97 (42), 82 (82), 71 (44), 57 (52), 43 (73).

### 8.7.21 Darstellung von 3-Hexadecylfuran (61)



Es werden 3,13 g (6,7 mmol) **60** in 40 ml Toluol vorgelegt und mit einer katalytischen Menge (ca. 40 mg) *p*-Toluolsulfonsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 3 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Das Gemisch wird mit 1 N Natronlauge gewaschen und die wässrige Phase abgetrennt. Die organische Phase wird ein weiteres Mal mit 1 N Natronlauge gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden zweimal mit Pentan extrahiert. Alle organischen Phasen werden vereinigt und über Natriumsulfat getrocknet. Die Lösungsmittel werden abdestilliert und das Produkt säulenchromatographisch an Flashgel gereinigt. Als Laufmittel wird Pentan verwendet. Es werden 1,34 g (4,6 mmol) 3-Hexadecylfuran erhalten, was einer Ausbeute von 69 % entspricht [100].

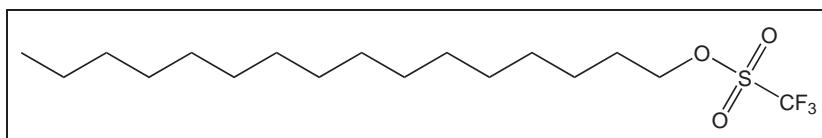
$R_F = 0,72$  (Pentan)

**$^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 7.33$  (m, 1H,  $\text{OCHCH}$ ),  $7.31$  (m, 1H,  $\text{OCHCR}$ ),  $6.25$  (m, 1H,  $\text{OCHCHCR}$ ),  $2.40$  (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H,  $\text{Furanyl-CH}_2$ ),  $1.55$  (m, 2H,  $\text{Furanyl-CH}_2\text{CH}_2$ ),  $1.26$  (s, 26H, Alkylkette),  $0.88$  (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ -).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 142.2$  (d,  $\text{OCHCR}$ ),  $138.4$  (d,  $\text{OCHCH}$ ),  $125.0$  (s,  $\text{OCHC-Alkyl}$ ),  $110.7$  (d,  $\text{OCHCH}$ ),  $31.6$  (t,  $\text{Furanyl-CH}_2$ ),  $29.7$ ,  $29.4$ ,  $29.4$ ,  $29.3$ ,  $29.2$ ,  $29.1$ ,  $29.0$ ,  $24.5$ ,  $22.4$  (t, Alkylkette),  $13.8$  (q,  $\text{CH}_3$ -).

**EI-MS,  $m/z$  (%):** 292 (5)  $[\text{M}^+]$ , 95 (23), 82 (100), 41 (20).

### 8.7.22 Darstellung Trifluormethansulfonsäurehexadecylester



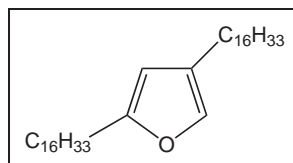
Eine Lösung von 3 g (10,7 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid in 24 ml Dichlormethan wird innerhalb von 15 min. zu einer Lösung von 2,4 g (10 mmol) Hexadecanol in 40 ml Dichlormethan gegeben. Nach 20 min. Rühren bei RT wird das Reaktionsgemisch auf Eis gegeben. Die organische Phase wird mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird abdestilliert. Die Reinigung erfolgt durch SC mit Pentan/Diethylether 19:1 als Laufmittel. Es werden 3,03 g (8,1 mmol) Trifluormethansulfonsäurehexadecylester erhalten was einer Ausbeute von 81 % entspricht [114].

$R_F = 0,61$  (Pentan/Diethylether 19:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 4.53$  (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-O-}$ ),  $1.82$  (quint,  $J = 7$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OSO}_2-$ ),  $1.45$ – $1.36$  (m, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ),  $1.35$ – $1.22$  (m, 26H, Alkylkette),  $0.88$  (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ -).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 120.3$  (s,  $\text{CF}_3$ -),  $77.7$  (t,  $-\text{CH}_2\text{-SO}_2-$ ),  $31.9$ ,  $29.7$ ,  $29.7$ ,  $29.7$ ,  $29.6$ ,  $29.6$ ,  $29.5$ ,  $29.4$ ,  $29.3$ ,  $29.2$ ,  $28.9$ ,  $25.0$ ,  $22.7$  (t, Alkylkette),  $14.1$  (q,  $\text{CH}_3$ -).

### 8.7.23 Darstellung von 2,4-Dihexadecylfuran (55)



In 130  $\mu\text{l}$  Pentan werden 40 mg (0,35 mmol) Kalium-*tert*-butanolat suspendiert. Das Gemisch wird auf  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und eine Lösung von 217  $\mu\text{l}$  Butyllithium (1,6 M, Pentan) wird zugetropft. Die Suspension wird 10 min. bei  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt und dann werden 61  $\mu\text{l}$  TMEDA (0,41 mmol) zugegeben. Anschließend wird eine Lösung von 84 mg (0,29 mmol) 3-Hexadecylfuran (**61**) in 300  $\mu\text{l}$  Pentan zugegeben. Das Gemisch erwärmt und 24 h bei RT gerührt. Im Anschluss wird auf  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und 200  $\mu\text{l}$  THF und eine Lösung von 126 mg (0,34 mmol) Trifluormethansulfonsäurehexadecylester in 100  $\mu\text{l}$  THF zugegeben. Im Anschluss daran wird 4 Tage bei RT gerührt. Danach wird Eiswasser unter kräftigem Rühren zugegeben und die Phasen werden getrennt. Die organische Phase wird 4 mal mit Wasser und die wässrige Phase wird mit Pentan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird abdestilliert. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit Pentan als Laufmittel. Nach der Chromatographie wird eine Mischfraktion (12,3 mg) erhalten, die zu 50 % aus 2,4-Dihexadecylfuran (6 mg) besteht. Das ergibt eine Ausbeute von 4 % [30].

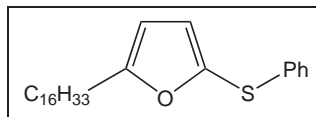
$R_F = 0,74$  (Pentan)

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta[\text{ppm}] = 7.09\text{--}7.07$  (m, 1H, C5-*H*-Furan), 5.92–5.91 (m, 1H, C3-*H*-Furan), 2.57 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H, C2- $\text{CH}_2$ ), 2.34 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H, C4- $\text{CH}_2$ ), 1.68–1.60 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 1.57–1.51 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 1.33–1.27 (m, 52H, Alkylketten), 0.92 (t,  $J = 6.8$  Hz, 6H,  $\text{CH}_3-$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta[\text{ppm}] = 156.9$  (s, Furanyl-C), 137.3 (d, Furanyl-C), 128.2 (s, Furanyl-C), 106.9 (d, Furanyl-C), 32.3, 30.5, 30.5, 30.2, 30.1, 30.1, 30.0, 30.0, 29.8, 29.8, 29.7, 29.6, 28.6, 28.5, 25.4, 23.1 (t, Alkylketten), 14.4 (q,  $\text{CH}_3-$ ).

**EI-MS,  $m/z$  (%):** 516 (36) [ $M^+$ ], 473 (4), 375 (7), 319 (89), 306 (85), 263 (17), 165 (18), 151 (9), 121 (13), 109 (100), 95 (52), 81 (22), 69 (21), 57 (44), 43 (69).

### 8.7.24 Darstellung von 5-Hexadecyl-2-(thiophenyl)furan (64)



Zu einer Lösung von 0,9 g (3,1 mmol) 2-Hexadecylfuran in 12 ml THF werden bei Raumtemperatur 2,2 ml einer *tert*-Butyllithiumlösung (1,7 M, Pentan) zugetropft. Nach 3 h werden 0,76 g (3,47 mmol) Diphenyldisulfid in 2,5 ml THF zugegeben. Die Lösung wird 14 d bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit Wasser versetzt und die wässrige Phase wird mit einem Pentan/Diethylether-Gemisch extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 2 N Natronlauge, Wasser und gesättigter Natriumchlorid gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit Pentan als Laufmittel. Es werden 0,82 g (2,05 mmol) 5-Hexadecyl-2-(thiophenyl)furan erhalten, was einer Ausbeute von 68 % entspricht [113].

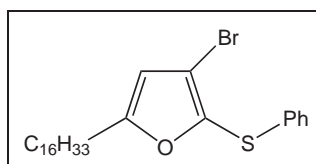
$R_F = 0,45$  (Pentan)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 7.31\text{--}7.18$  (m, 5H, PhH), 6.65 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H, C3-*H* Furan), 6.07 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H, C4-*H* Furan), 2.63 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{C}_{15}\text{H}_{31}$ ), 1.63 (quint,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}_{14}\text{H}_{29}$ ), 1.30-1.25 (m, 26H, Alkylkette), 0.88 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 161.3$  (s, Furanyl-*C*), 140.0 (s, Furanyl-*C*), 137.9 (s, Phenyl-*C*), 128.9 (d, Phenyl-*CH*), 126.9 (d, Phenyl-*CH*), 125.9 (d, Phenyl-*CH*), 121.0 (d, C-3 Furan), 107.2 (d, C-4 Furan), 39.7, 31.9, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.1, 28.5, 27.8, 22.7 (t, Alkylkette), 14.1 (q,  $\text{CH}_3$ ).

**EI-MS,  $m/z$  (%):** 400 (53) [ $M^+$ ], 189 (100), 176 (12), 128 (16), 105 (7), 81 (6), 57 (100), 43 (28).

### 8.7.25 Darstellung von 3-Brom-5-hexadecyl-2-(thiophenyl)furan (65)



Zu einer Lösung von 40 mg (0,1 mmol) 5-Hexadecyl-2-(thiophenyl)furan (**64**) in 1 ml Dichlormethan wird bei 0 °C eine Lösung von 16 mg (0,1 mmol) Brom in 0,5 ml Dichlormethan zugetropft. Es wird 3 h bei 0 °C und danach über Nacht bei RT gerührt. Dann werden 100 mg Diisopropylamin zugegeben. Es wird 5 % Natriumsulfitlösung zugegeben und die Phasen werden getrennt. Die organische Phase wird mit 2N Salzsäure, Natriumcarbonatlösung und Natriumchloridlösung gewaschen und nach Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel abdestilliert. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit Pentan als Laufmittel. Es werden 16 mg (0,033 mmol) 3-Brom-5-hexadecyl-2-(thiophenyl)furan erhalten, was einer Ausbeute von 33 % entspricht [113].

$R_F = 0,41$  (Pentan)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 7.50\text{--}7.14$  (m, 5H, PhH), 6.18 (s, 1H, C4-H Furan), 2.60 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{C}_{15}\text{H}_{31}$ ), 1.61 (quint,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}_{14}\text{H}_{29}$ ), 1.30–1.26 (m, 26H, Alkylkette), 0.88 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta[\text{ppm}] = 161.1$  (s, Furanyl-C), 139.8 (s, Furanyl-C), 137.0 (s, Phenyl-C), 129.0 (d, Phenyl-CH), 127.5 (d, Phenyl-CH), 127.1 (d, Phenyl-CH), 126.5 (d, Phenyl-CH), 111.6 (s, C-3 Furan), 110.9 (d, C-4 Furan), 31.9, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.0, 28.5, 27.5, 22.7 (t, Alkylkette), 14.1 (q,  $\text{CH}_3$ ).

**EI-MS,  $m/z$  (%):** 480 (89)  $[\text{M}^+]$ , 478 (87), 399 (8), 269 (100), 267 (97), 189 (26), 187 (17), 160 (55), 147 (52), 109 (19), 83 (16), 69 (31), 57 (45), 43 (86).



## 9 Abkürzungen

Abb.	Abbildung
abs.	absolutiert
br.	breit
COSY	correlation spectroscopy
d	Dublett
DIBAL	Diisobutylaluminiumhydrid
DMF	Dimethylformamid
DMDS	Dimethyldisulfid
DMPU	1,3-Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinone
EI	Elektronenstoßionisation
ESI	Electron Spray Ionisation
eV	Elektronenvolt
GC	Gaschromatographie
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
i.D.	innerer Durchmesser
J	Kopplungskonstante

---

m	Multiplett
MS	Massenspektrometrie
MSTFA	N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoracetamid
$m/z$	Masse pro Elementarladung
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOE	Nuclear Overhauser Effect
ODP	ovipositor deterring pheromone
p	para
PE	Pentan
ppm	parts per million
q	Quartett
quint	Quintett
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
SC	Säulenchromatographie
t	Triplet
Tab.	Tabelle
THF	Tetrahydrofuran
TIC	Totalionenchromatogramm
TMEDA	Tetramethylethyldiamin
TMS	Tetramethylsilan oder trimethylsilyl-
TMSCl	Trimethylchlorsilan

# Literaturverzeichnis

- [1] P. Anderson in M.Hilker and T.Meiners (eds.), *Chemoecology of Insect Eggs and Egg Deposition*, Blackwell Berlin, **2002**, 235.
- [2] R.J. Prokopy, *Environ. Entomol.*, **1972**, *1*, 326.
- [3] N. Osawa, *Res. Popul. Ecol.*, **1989**, *31*, 153.
- [4] D. Thiéry, J.L. Le Quéré, *Naturwiss.*, **1991**, *78*, 132.
- [5] S.A. Corbet, *Nature*, **1973**, 537.
- [6] J. Hurter et al., *Experientia*, **1987**, *43*, 157.
- [7] E.F. Boller, *Z. Ang. Entomol.*, **1992**, *113*, 113.
- [8] T. Imai et al., *J. Chem. Ecol.*, **1990**, *16*, 1237.
- [9] L. Guoqing, H. Zhaojun, M. Lili, Q. Xiaoran, C. Changkun, W. Yinchang, *J. Insect Phys.*, **2001**, *47*, 951.
- [10] Gabel B., D. Thiéry *J. Chem. Ecology*, **1996**, *22*, 161.
- [11] Z. Ružička, *Eur. J. Entomol.*, **1994**, *91*, 361.
- [12] Z. Ružička, *Eur. J. Entomol.*, **1996**, *93*, 161.
- [13] Z. Ružička, *Eur. J. Entomol.*, **2006**, *103*, 757.
- [14] Z. Ružička, *Eur. J. Entomol.*, **1997**, *94*, 431.
- [15] S.J. Brooks, P.C. Barnard, *Bulletin British Museum of Natural History (Entomology)*, **1990**, *59*, 117.

- [16] B. Klausnitzer, H. Klausnitzer, *Marienkäfer*, A. Ziemsen Verlag Wittenberg, **1986**.
- [17] H. Triltsch, B. Freier, M. Möwes, *Marienkäfer (Coleoptera, Coccinellidae) als Nützlinge in agrarischen Ökosystemen*, Parey Buchverlag Berlin, **1996**.
- [18] C.S. Henry, *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, **1982**, 84, 191.
- [19] R. Hemberger, <http://www.dbc.uci.edu/~pjbryant/biodiv/>, **7.11.2007**.
- [20] D.G. James, *Biocontrol Science and Technology*, **2006**, 16, 107.
- [21] J. da Gepp, [http://neurotteri.casaccia.enea.it/chrysopa\\_perla.htm](http://neurotteri.casaccia.enea.it/chrysopa_perla.htm), **7.11.2007**.
- [22] W. Funk, T. Funk, *Insektenbox*, **2007**, [www.insektenbox.de](http://www.insektenbox.de)
- [23] J. Poorani, *Coccinelidae of the Indian Subcontinent*, [http://www.angelfire.com/bug2/j\\_poorani/](http://www.angelfire.com/bug2/j_poorani/), **7.11.2007**.
- [24] Omkar, S.K. Singh, K. Singh, *Insect Science*, **2006**, 13, 301.
- [25] Omkar, R.B. Bind, *Biocontrol Sci. Technol.*, **2004**, 14, 665.
- [26] B. Lebrun, J.C. Braekman, D. Daloze, *Magnetic Resonance in Chemistry*, **1999**, 37, 60.
- [27] A.G. King, *Chem. Rev.*, **1996**, 96, 1105.
- [28] S. Schulz, C. Arsene, M. Tauber, J. McNeil, *Phytochemistry*, **2000**, 54, 325.
- [29] Y. Matsuda, K. Mori, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **2002**, 66, 1032.
- [30] L. Brandsma, H. D. Verkruijsse, *Preparative Polar Organometallic Chemistry*, Springer-Verlag, **1987**.
- [31] S. Krejcik, <http://www.meloidae.com>, **7.11.2007**.
- [32] P. Katsoyannos, D.C. Kontodimas, G. Stathas, *Eur. J. Entomol.*, **2005**, 102, 453.
- [33] P. Bryant, <http://nathistoc.bio.uci.edu/>, **7.11.2007**.

- [34] A.A. İşikber, M.J.W. Copland, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **2002**, *102*, 93.
- [35] J.T. Cardoso, S.M.N. Lázzari, *Revista Brasileira de Entomologia*, **2003**, *47*, 443.
- [36] B. Anokhin, *Zoological Institute of Russian Academy of Science*, <http://www.zin.ru/>, **7.11.2007**.
- [37] M.H. Muma, *The Florida Entomologist*, **1955**, *38*, 117.
- [38] I. Hodek, *Biology of Coccinellidae*, CZ-Prague: Czechoslovak Academy of Science, **1973**.
- [39] M.J. Parr, B.M.D. Tran, M.S.J. Simmonds, G.C. Kite, P.F. Credland, *Journal of Chemical Ecology*, **1998**, *24*, 1577.
- [40] R.K. Saini, M.M. Rai, A. Hassanali, J. Wawiye, H. Odongo, *J. Insect. Physiol.*, **1995**, *41*, 711.
- [41] J.L. Hemptinne, G. Lognay, M. Doumbia, A.F.G. Dixon, *Chemoecology*, **2001**, *11*, 43.
- [42] E. Laubertie, X. Martini, C. Cadena, M. Treilhou, A.F.G. Dixon, J.-L. Hemptinne, *Journal of Insect Behavior*, **2006**, *19*, 231.
- [43] Z. Růžicka, persönliche Nachricht
- [44] M.D. Ginzel, J.G. Millar, L.M. Hanks, *Chemoecology*, **2003**, *13*, 135.
- [45] Y. Oguma, T. Nemoto, Y. Kuwahara, *Chemoecology*, **1992**, *3*, 60.
- [46] T. Hartmann, *Planta*, **1999**, *207*, 483.
- [47] T. Hartmann, L. Witte, In Pelletier (ed): *Alkaloids: chemical and biological perspectives*, Vol. 9, Pergamon Press, **1995**, 155.
- [48] A.R. Mattocks, *Chemistry and Toxicology of pyrrolizidine alkaloids*, Academic Press, **1986**.

- [49] H. Frei, J. Lüthy, J. Brauchli, U. Zweifel, F.E. Würgler, C. Schlatter, *Chem. Biol. Interact.*, **1992**, 83, 1.
- [50] C.K. Winter, H.J. Segall, In Cheeke (ed): *Toxicants of plant origin*, Vol. 1 Alkaloids, CRS Press, **1989**, 23.
- [51] M. Boppré, *Naturwissenschaften*, **1986**, 73, 17.
- [52] V.K. Iyengar, T. Eisner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1999**, 96, 9169.
- [53] C. Rossini, A. Gonzalez, T. Eisner, *J. Insect Physiol.*, **2001**, 47, 639.
- [54] J.F. Hare, T. Eisner, *Oecologia*, **1993**, 96, 9.
- [55] T. Hartmann, C. Theuring, T. Beuerle, L. Ernst, M.S. Singer, E.A. Bernays, *J. Chem. Ecol.*, **2004**, 30, 229.
- [56] S. Schulz, W. Francke, M. M. Boppré, T. Eisner, J. Meinwald, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1993**, 90, 6834.
- [57] D.L. Green, <http://www.pollinator.us>, **7.11.2007**.
- [58] G.S. Robinson, P.R. Ackery, I.J. Kitchin, G.W. Beccaloni, L.M. Hernández, *Hosts-a database of the host plants of the world's Lepidoptera*, **2002**, [www.nhm.ac.uk/entomology/hostplants/](http://www.nhm.ac.uk/entomology/hostplants/).
- [59] J. Pickering, *Discover Life*, [www.discoverlife.org/](http://www.discoverlife.org/), **21.9.2007**.
- [60] A. Ehmke, L. Witte, A. Biller, T. Hartmann, *Z. Naturforsch. C*, **1990**, 45, 1185.
- [61] L. T. Gelbaum, M. M. Gordon, M. Miles, L. H. Zalkow, *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 2501.
- [62] T. Hartmann, C. Theuring, T. Beuerle, N. Klewer, S. Schulz, M.S. Singer, E.A. Bernays, *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **2005**, 35, 391.
- [63] T. Beuerle, C. Theuring, N. Klewer, S. Schulz, T. Hartmann, *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **2007**, 37, 80.

- [64] L.H. Zalkow, J.A. Glinski, L.T. Gelbaum, T.J. Fleischmann, L.S. McGowan, M.M. Gordon, *J. Med. Chem.*, **1985**, 28, 687.
- [65] T.H. Chan, M.A. Brook, T. Chaly, *Synthesis*, **1983**, 203.
- [66] T. Hartmann, C. Theuring, T. Beuerle, E.A. Bernays, *Chemoecology*, **2004**, 14, 207.
- [67] J.R. Trigo, L.E.S. Barata, K.S. Brown, *J. Chem. Ecol.*, **1994**, 20, 2883.
- [68] T.Hartmann, C. Theuring, T. Beuerle, E.A. Bernays, M.S. Singer, *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **2005**, 1083.
- [69] J.W. Davenport, W.E. Connor, *Journal of Insect Science*, **2003**, 3, 3.
- [70] R.I. Trivers, *Sexual Selection and the Descent of Man, 1871-1971*, Aldine Publishing Company, **1972**.
- [71] N. Hilt, *Dissertation*, Universität Bayreuth, **2005**.
- [72] J.P. Kamerling, J.F.G. Vliegthart, J. Vink, J.J. de Ridder, *Tetrahedron*, **1971**, 27, 4275.
- [73] K. Blau, J. Halket (Ed.), *Handbook of Derivatives for Chromatography*, John Wiley & Sons Ltd., 2<sup>nd</sup> Edition, **1993**.
- [74] A.M.J. Fichtinger-Schepman, J.P. Kamerling, J.F.G. Vliegthart, *Carbohydr. Res.*, **1979**, 69, 181.
- [75] L. Kenne, B. Lindberg, J.K. Madden, *Carbohydr. Res.*, **1983**, 122, 249.
- [76] J.-R. Neeser, T.F. Schweizer, *Anal. Biochem.*, **1984**, 142, 58.
- [77] M.T. Cancilla, S.P. Gaucher, H. Desaire, J.A. Leary, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, 2901.
- [78] R.E. Chambers, J.R. Clamp, *Biochem. J.*, **1971**, 125, 1009.
- [79] J.F.G. Vliegthart, L. Dorland, H. van Halbeek, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1983**, 41, 209.

- [80] P.K. Agrawal, *Phytochemistry*, **1992**, 31, 3307.
- [81] A.D. Elbein, Y.T. Pan, I. Pastuszak, D. Carroll, *Glycobiology*, **2003**, 13, 17R.
- [82] Q. Chen, G.G. Haddad, *The Journal of Experimental Biology*, **2004**, 207, 3125.
- [83] G.R. Wyatt, G.F. Kalf, *The Journal of General Physiology*, **1957**, 40, 833.
- [84] A. Becker, P. Schloeder, J.E. Steele, G. Wegener, *Experientia*, **1996**, 52, 433.
- [85] G.P. Dateo, L.M. Roth, *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **1967**, 60, 1025.
- [86] D.R. Nelson, G.J. Blomquist in R.J. Hamilton (ed.), *Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions*, The Oily Press, **1995**, 1.
- [87] C. Schall, *Chem. Ber.*, **1892**, 25, 1489.
- [88] A. Etard, *Compt. Rend.*, **1892**, 114, 364.
- [89] K.H. Lockey, *Comp. Biochem. Physiol.*, **1985**, 81B, 223.
- [90] D.R. Nelson, D.A. Carlson, *Insect Biochem.*, **1986**, 16, 403.
- [91] L.L. Jackson, *Comp. Biochem. Physiol.*, **1972**, 41B, 331.
- [92] J. Jallon, *Evolution*, **1987**, 41, 294.
- [93] Y. Oguma, T. Nemoto, Y. Kuwahara, *Appl. Entomol. Zool.*, **1992**, 27, 499.
- [94] P.E. Sonnet, E.C. Uebel, R.L. Harris, R.W. Miller, *J. Chem. Ecol.*, **1979**, 5, 353.
- [95] D.A. Carlson, Y. Schlein, *J. Chem. Ecol.*, **1991**, 17, 267.
- [96] J.Vargo, <http://mothphotographersgroup.msstate.edu/>, **7.11.2007**.
- [97] J.L. Capinera, *Featured Creatures*, <http://creatures.ifas.ufl.edu/index.htm>, **27.9.2007**.
- [98] C. Arsene, *Strukturaufklärung und Reaktivität langkettiger Lipide von Lepidopteren*, Tenea Verlag, **2003**.
- [99] P.A. Grieco, C.S. Pogonowski, S. Burke, *J. Org. Chem.*, **1975**, 40, 542.



- [100] I. Katsuhiko, S. Aoyama, H. Kotake, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **1978**, 51, 930.
- [101] N.B. McKeown, I. Chambrier, M.J. Cook, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1990**, 1169.
- [102] M. Schlosser, *J. Organometal. Chem.*, **1967**, 8, 9.
- [103] R.H. White, *Biochemistry*, **1988**, 27, 4415.
- [104] J. Glastrup, *Chromatographica*, **1998**, 827, 133.
- [105] G. Bachmann, *Skript zum Versuch Kohlenstoffhaushalt von Pflanzen und Boden*, Institut für Ökologie und Naturschutz, Universität Wien, **2002**.
- [106] J.P. Kamerling and J.F.G. Vliegthart, Chapter 4: Carbohydrates, *Clinical Biochemistry - Principles, Methods, Applications* (H.-Ch. Curtius and M. Roth, series eds.); Vol. 1, Mass Spectrometry (A.M. Lawson, ed.), Walter de Gruyter, Berlin **1989**, pp. 175-263.
- [107] S. Chattopadhyay, V. R. Mamdapur, M. S. Chadha, *Tetrahedron*, **1990**, 46, 3667.
- [108] H. Prinz, L. Six, K. Ruess, M. Liflaender, *Liebigs Ann. Chem.*, **1985**, 2, 217.
- [109] a.) Houben-Weyl, **1960**, Bd. 5/4, 595; b.) *Can. J. Chem.*, **1987**, 65, 160.
- [110] B. Flachsbarth, *Diplomarbeit*, Universität Braunschweig, **2004**.
- [111] H. G. Becker et al., *Organikum*, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, 16. Auflage, **1986**.
- [112] a.) M. Winitz, L. Bloch-Frankenthal, N. Izumiya, S. M. Birnbaum, C. G. Baker, J. P. Greenstein, *J. Am. Chem. Soc.*, **1956**, 78, 2423; b.) O. A. Mamer, *Methods in Enzymology*, **2000**, 324, 3.
- [113] S. M. Nolan, T. Cohen, *J. Org. Chem.*, **1981**, 46, 2473.
- [114] A. Abbotto, S. Bradamante, A. Facchetti, G. A. Pagani, *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 5755.
- [115] L. N. Mander, S. P. Sethi, *Tet. Let.*, **1984**, 25, 5953.

# A Anhang

Tabelle A.1: Vergleich der Inhaltsstoffe in den verschiedenen Coccinelliden  
xxx=Hauptkomponente, xx=Nebenkomponente, x=Spurenkomponente

	<i>Cheilomenes sexmaculata</i>	<i>Ceratomegilla undecimnotata</i>	<i>Cycloneda limbifer</i>	<i>Harmonia dimidiata</i>
Precoccinellin	xxx	xx	xxx	
Hippocasin	xxx	xx	xxx	
3-Hexadecanol(?)	x			
Hexadecanol	x			
Monocaprin	x			
3-Octadecanol(?)	x			
Octadecanol	x			x
Tetradecansäure		x		x
Hexadecansäure		xx		xx
Linolsäure		xx		xx
Ölsäure		xx		xxx
Octadecansäure		xx		xx
Docosan		x		
Tricosan	xx	xxx	xx	xx
Tetracosan		xx		xx
2-Methyltetracosan	xx		xx	
7-Pentacosen			xx	
9-Pentacosen		xxx	xx	
12-Pentacosen	xx			
Pentacosan	xx	xx	xxx	xx
2-Methylpentacosan	x		xx	
3-Methylpentacosan	xx		xx	
Hexacosan	x	x	x	xx
2-Methylhexacosan	xx		xx	
7-Heptacosen	x*		xx	

Tabelle A.1: (Fortsetzung)

9-Heptacosen		xx		xxx
Heptacosan	xxx	xxx	xx	xxx
5-Methylheptacosan		xx		
3-Methylheptacosan		x	x	
Squalen	xx			
Octacosan	x	xx	x	
9-Nonacosen		xx		xxx
Nonacosan	xx	xxx	xx	xx
Hentriacontan		x	xx	xx
11-Methylhentriacontan			x	
11,15-Dimethylhentriacontan	xx		xx	
Tritriacontan	x	x		
Pentatriaconten(?)	xx			
Octadecansäure-octadecylester		xx		xx

\* nur in einer Probe

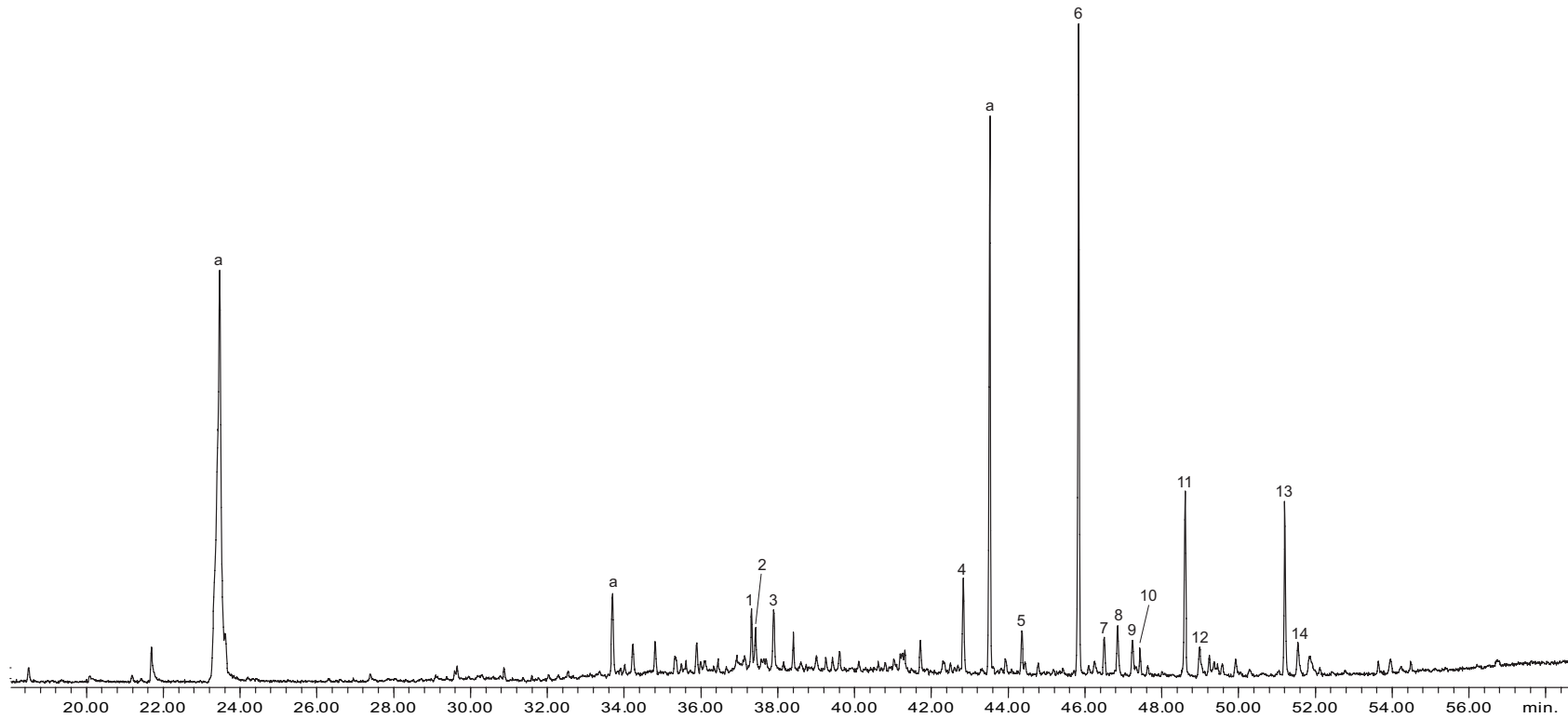


Abbildung A.1: Totalionenchromatogramm der aktiven Fraktion COC21d von *Chrysopa oculata*.

1) Linolsäureethylester, 2) Ölsäureethylester, 3) Octadecansäureethylester, 4) Pentacosan, 5) Hexacosan, 6) Heptacosan, 7) 5-Methylheptacosan, 8) 3-Methylheptacosan, 9) Octacosan, 10) Squalen, 11) Nonacosan, 12) 11-, 13-, 15-Methylnonacosan, 13) Hentriacontan, 14) Methylhentriacontan, a) Artefakt

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

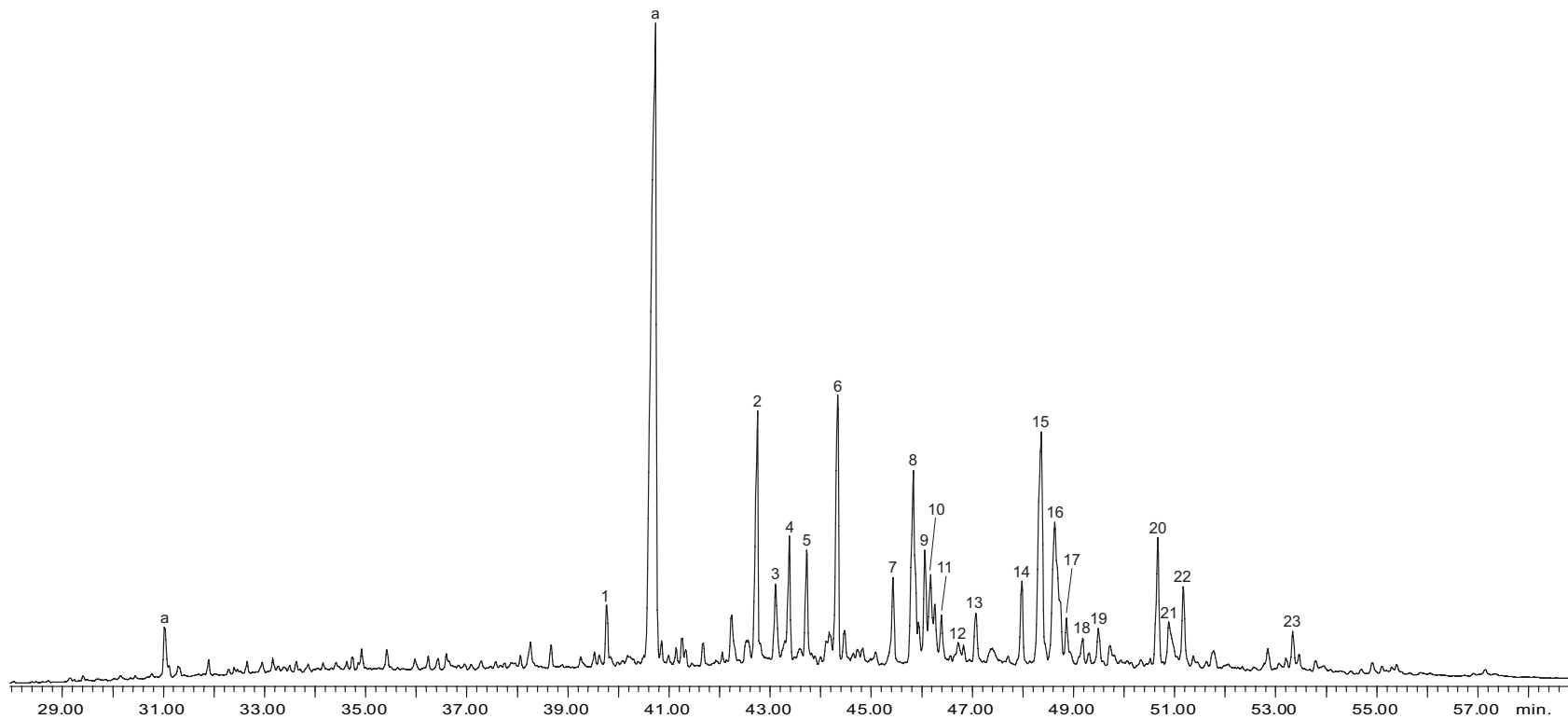


Abbildung A.2: Totalionenchromatogramm der aktiven Fraktion COC24b von *Chrysopa oculata*.

1) Pentacosan, 2) Heptacosan, 3) 13-Methylheptacosan, 4) 5-Methylheptacosan, 5) 3-Methylheptacosan, 6) Squalen, 7) Nonacosan, 8) 9-, 13-, 15, 17-Methylnonacosan, 9) 5-Methylnonacosan, 10) 9,13-Dimethylnonacosan, 11) 3-Methylnonacosan, 12) Triacontan, 13) 3-Methyltriacontan, 14) Hentriacontan, 15) 9-, 13-, 15-, 17-Methylhentriacontan, 16) 5,??-Dimethylhentriacontan, 17) 3-Methylhentriacontan, 18) Dotriacontan, 19) 3-Methyldotriacontan, 20) 11-, 13-Methyltritriacontan, 21) Dimethyltritriacontan, 22) 5-Methyltetratriacontan, 23) 5-Methylhexatriacontan (?),  
a) Artefakt

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

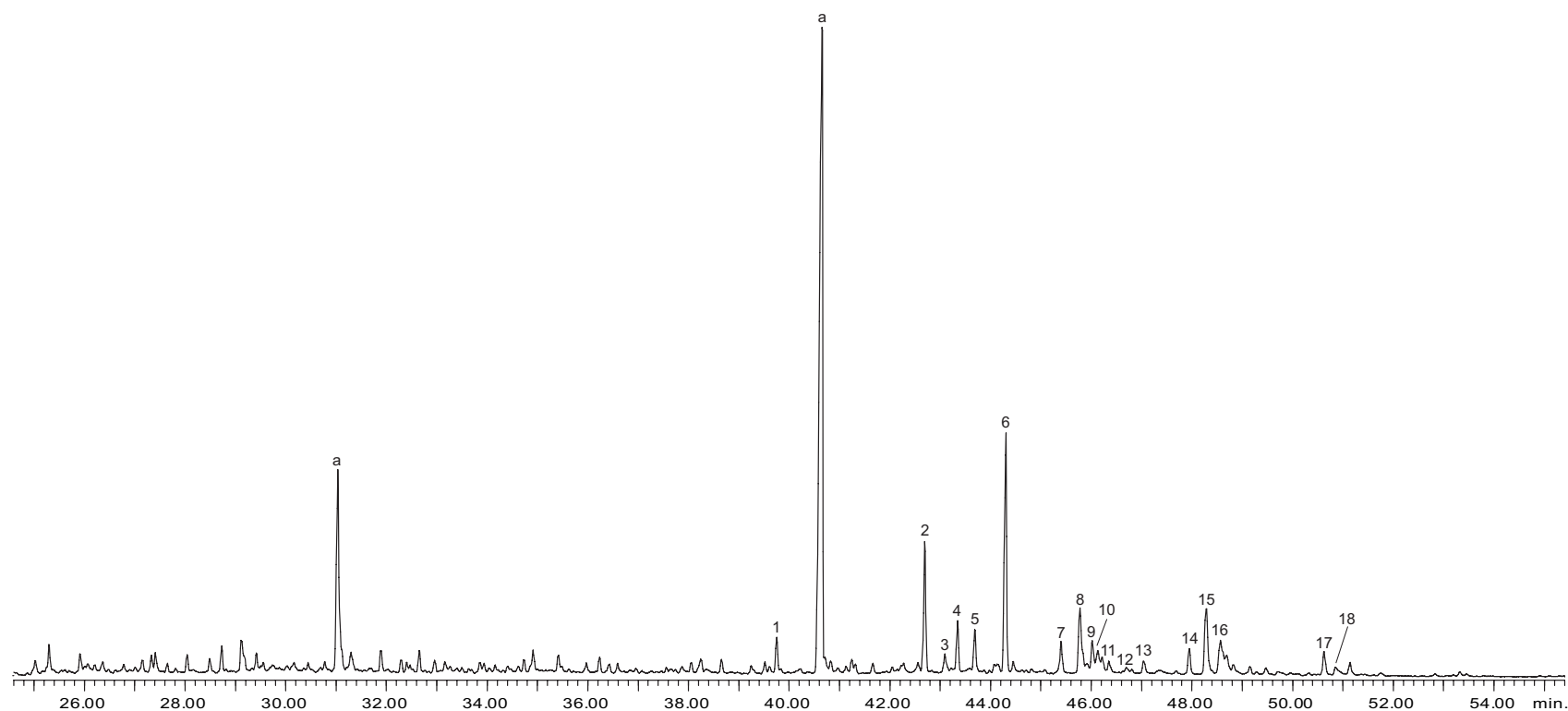


Abbildung A.3: Totalionenchromatogramm der aktiven Fraktion COC24c von *Chrysopa oculata*.

1) Pentacosan, 2) Heptacosan, 3) 13-Methylheptacosan, 4) 5-Methylheptacosan, 5) 3-Methylheptacosan, 6) Squalen, 7) Nonacosan, 8) 9-, 13-, 15, 17-Methylnonacosan, 9) 5-Methylnonacosan, 10) 9,13-Dimethylnonacosan, 11) 3-Methylnonacosan, 12) Triacontan, 13) 3-Methyltriacontan, 14) Hentriacontan, 15) 9-, 13-, 15-, 17-Methylhentriacontan, 16) Dimethylhentriacontan, 17) 11-, 13-Methyltritriacontan, 18) Dimethyltritriacontan, a) Artefakt

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

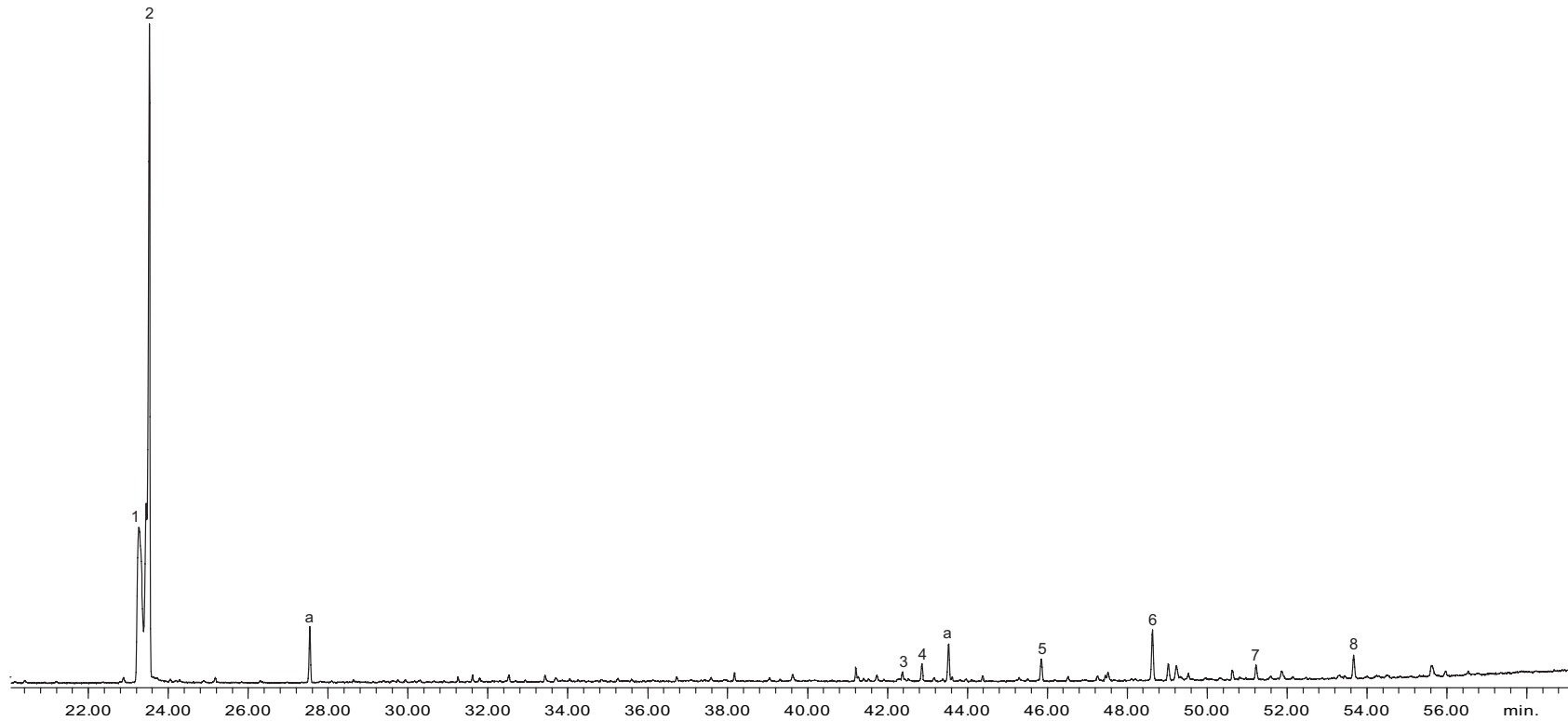


Abbildung A.4: Totalionenchromatogramm der aktiven Fraktion CSE1b von *Cheilomenes sexmaculata*.

1) Precocinellin, 2) Hippocasin, 3) (*Z*)-12-Pentacosen, 4) Pentacosan, 5) Heptacosan, 6) Nonacosan, 7) Hentriacontan, 8) Tritriacontan, a) Artefakt

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

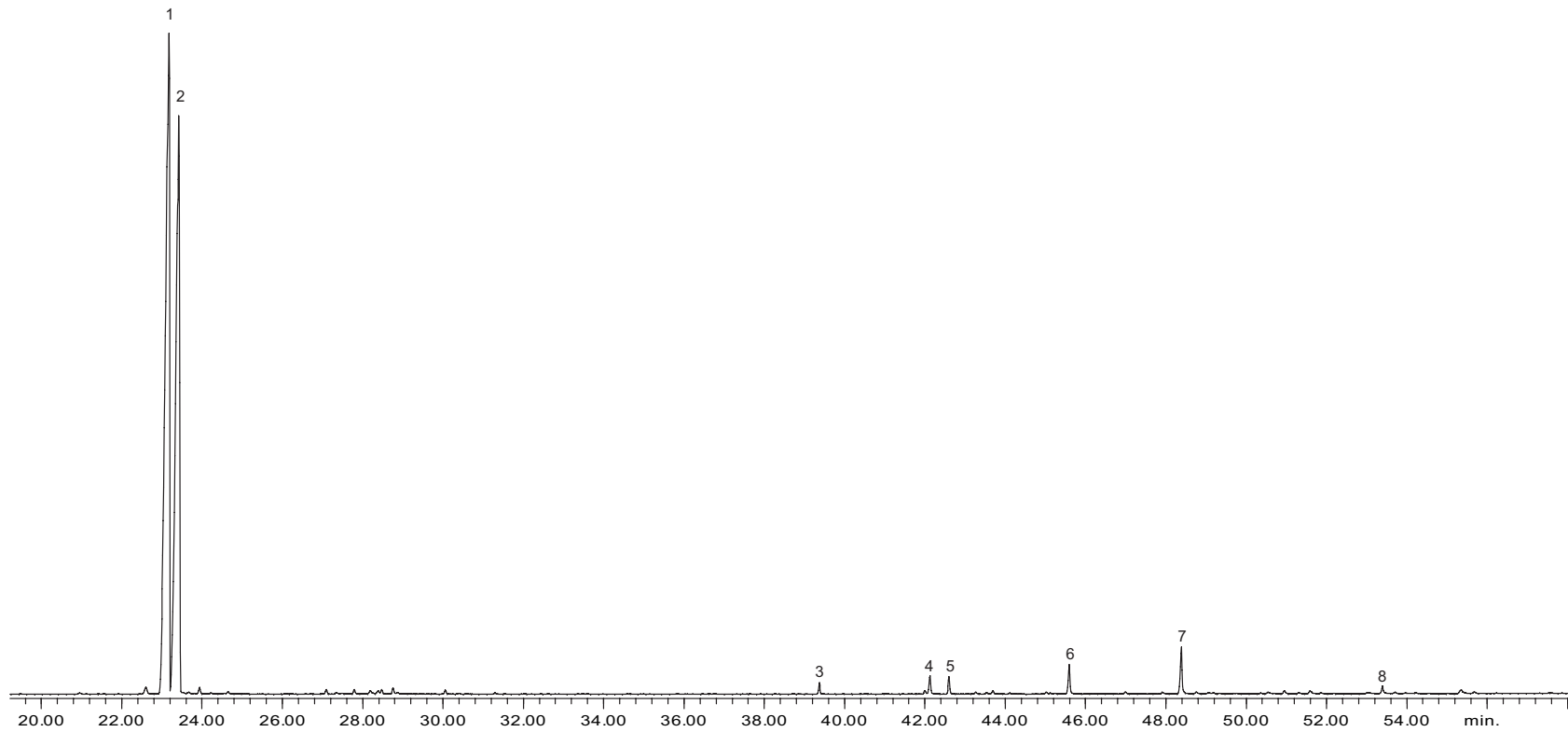


Abbildung A.5: Totalionenchromatogramm der aktiven Fraktion CSE2c von *Cheilomenes sexmaculata*.

1) Precoccinellin, 2) Hippocasin, 3) Tricosan, 4) (*Z*)-12-Pentacosen, 5) Pentacosan, 6) Heptacosan, 7) Nonacosan, 8) Tritriacontan

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C



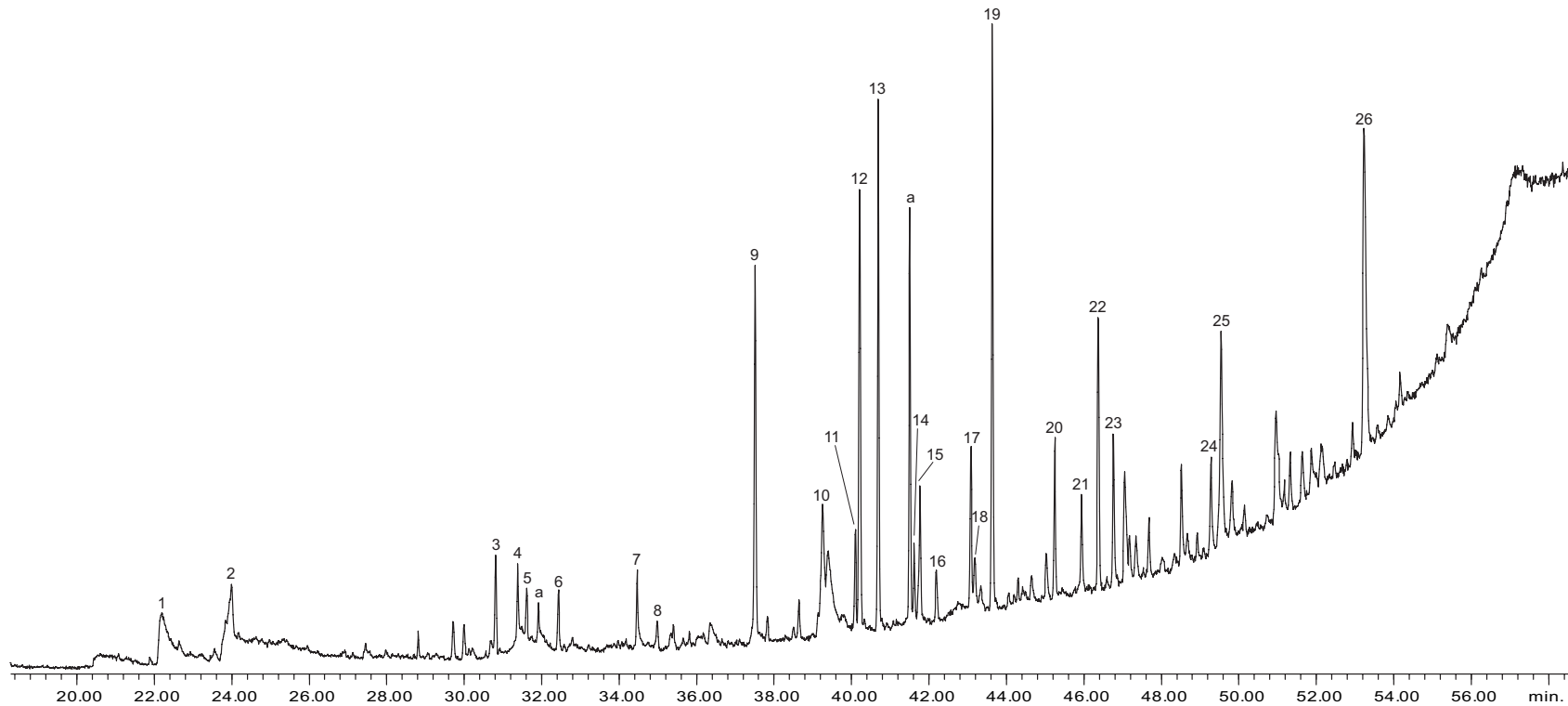


Abbildung A.6: Totalionenchromatogramm der Larvenspuren von *Cheilomenes sexmaculata* (MSTFA-Derivat).

1) Precoccinellin, 2) Hippocasin, 3) 3-Hexadecanol, 4) 1-Hexadecanol, 5) unbekannt, 6) Monocaprin, 7) 3-Octadecanol, 8) 1-Octadecanol, 9) Triocosan, 10) Octadecenamid, 11) 2-Methyltetracosan, 12) (*Z*)-12-Pentacosen, 13) Pentacosan, 14) 2-Methylpentacosan, 15) 3-Methylpentacosan, 16) Hexacosan, 17) 2-Methylhexacosan, 18) 7-Heptacosen, 19) Heptacosan, 20) Squalen, 21) unbekannt, 22) Nonacosan, 23) 11-Methylnonacosan, 24) 11-Methylhentriacontan, 25) 11,15-Dimethylhentriacontan, 26) Pentatriaconten, a) Artefakt

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

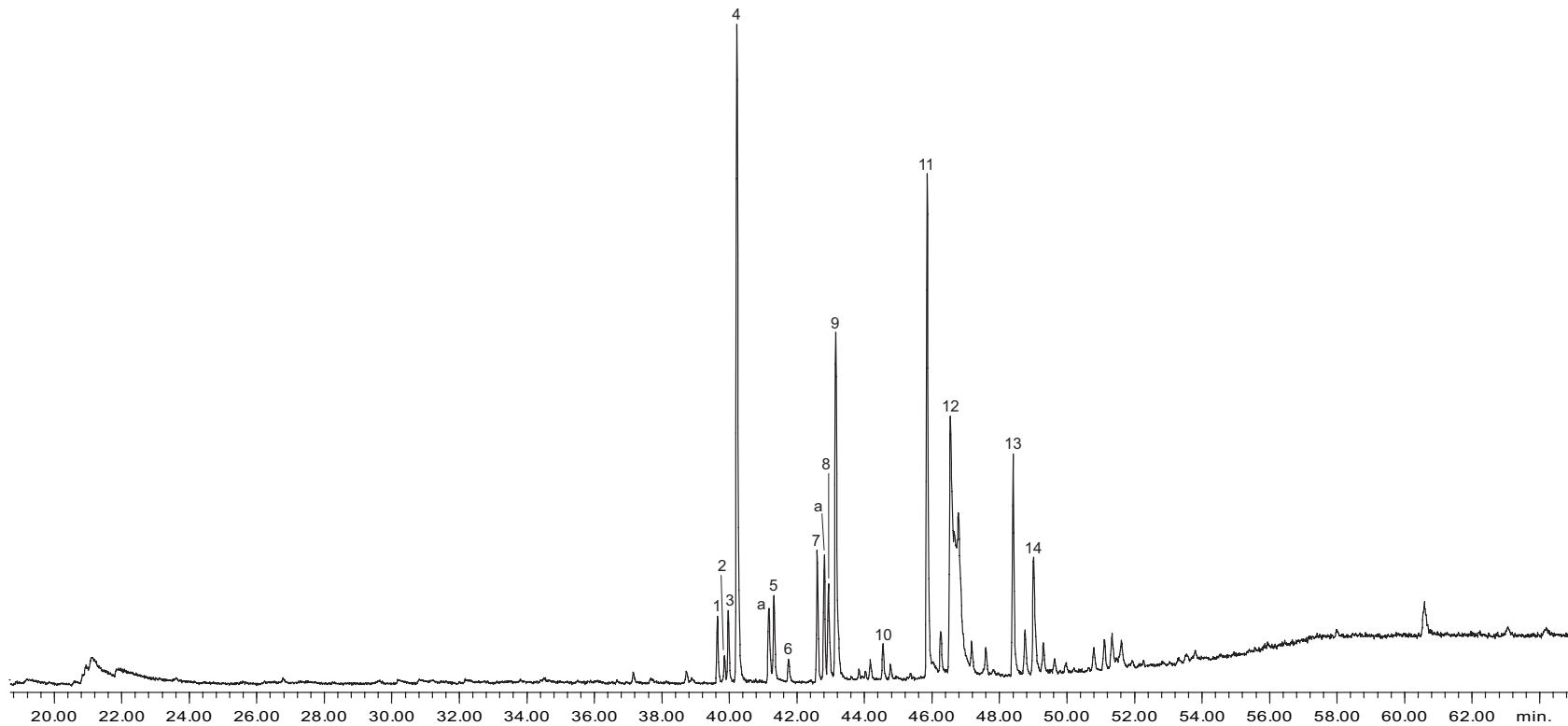


Abbildung A.7: Totalionenchromatogramm der aktiven Fraktion CSE5b von *Cheilomenes sexmaculata*.

1) 2-Methyltetracosan, 2) (*E*)-12-Pentacosen, 3) (*Z*)-12-Pentacosen, 4) Pentacosan, 5) 3-Methylpentacosan, 6) Hexacosan, 7) 2-Methylhexacosan, 8) 7-Heptacosen, 9) Heptacosan, 10) Octacosan, 11) Nonacosan, 12) Dimer von Precoccinellin bzw. Hippocasin, 13) Hentriacontan, 14) 11,15-Dimethylhentriacontan, a) Artefakt

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

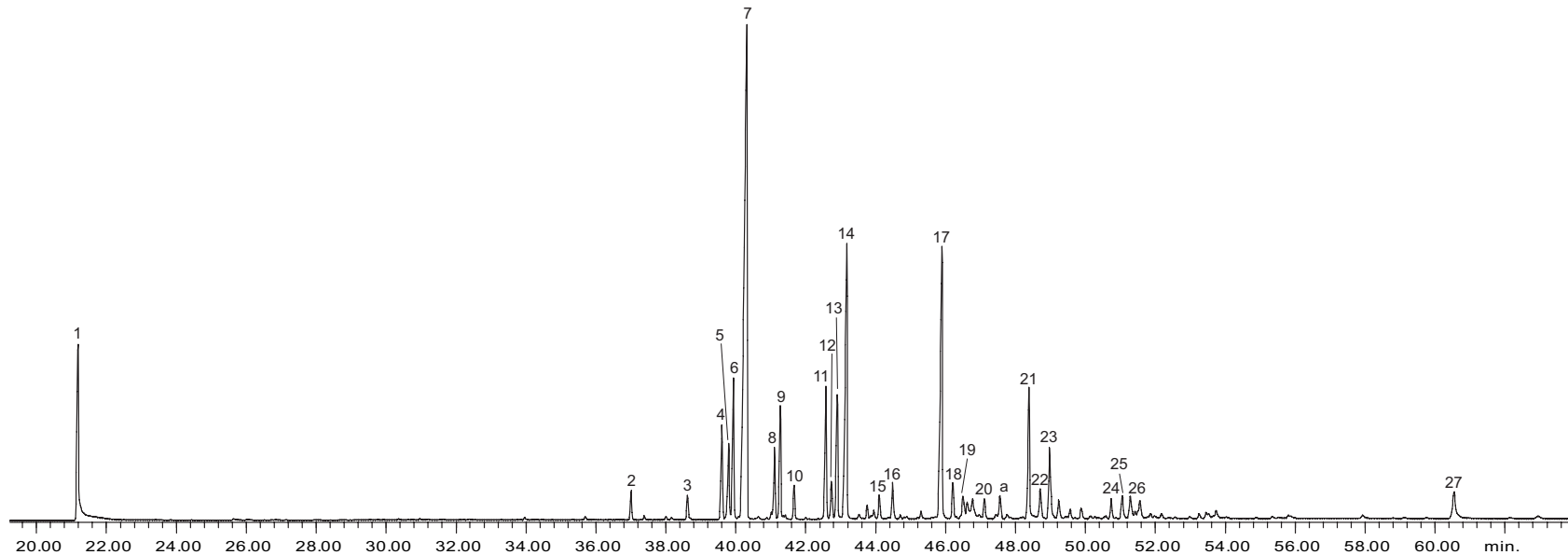
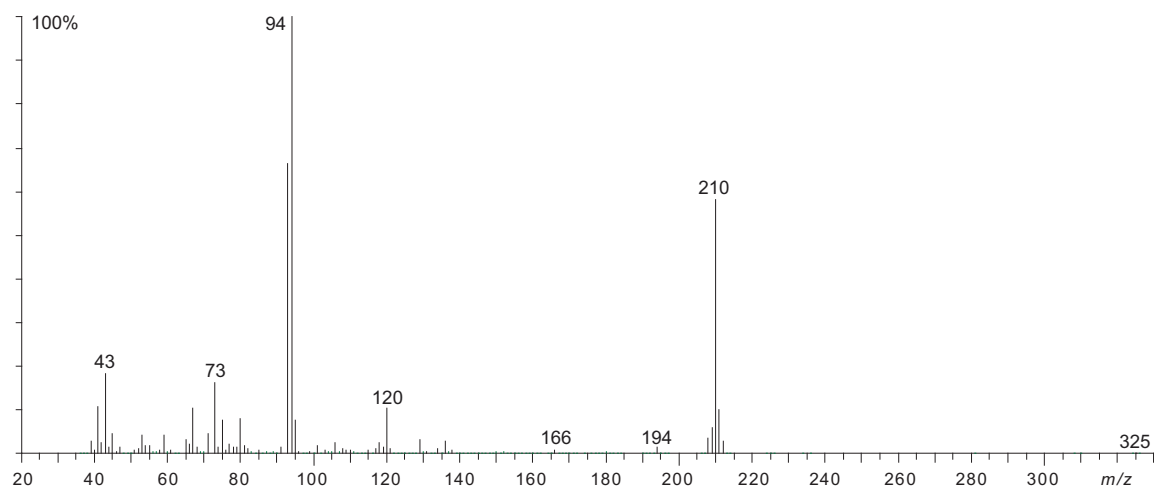
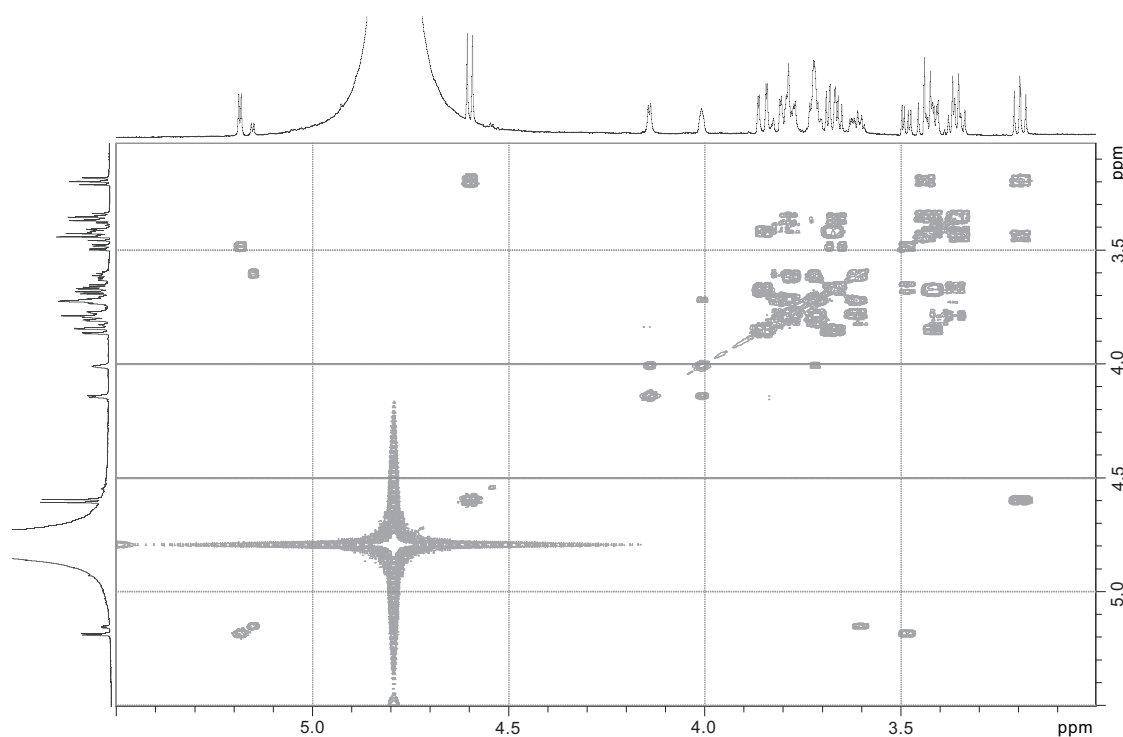


Abbildung A.8: Totalionenchromatogramm der aktiven Fraktion CSE5c von *Cheilomenes sexmaculata*.

1) Hippocasin, 2) Tricosan, 3) Tetracosan, 4) 2-Methyltetracosan, 5) (*E*)-12-Pentacosen, 6) (*Z*)-12-Pentacosen, 7) Pentacosan, 8) 2-Methylpentacosan, 9) 3-Methylpentacosan, 10) Hexacosan, 11) 2-Methylhexacosan, 12) Heptacosandien (?), 13) 7-Heptacosen, 14) Heptacosan, 15) 3-Methylheptacosan, 16) Octacosan, 17) Nonacosan, 18) 11-Methylnonacosan, 19) 9,13-, 13,15-Dimethylnonacosan, 20) Tricosan, 21) Hentriacontan, 22) 11-Methylhentriacontan, 23) 11,15-Dimethylhentriacontan, 24) 16-Methyldotriacontan, 25) Dimethyldotriacontan, 26) 11,15-Dimethyltritriacontan (?), 27) Octadecansäuredocosylester, a) Artefakt

Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 5 °C/min auf 320 °C

Abbildung A.9: Massenspektrum des Oxoalkaloids **40**Abbildung A.10:  $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-NMR der Naturprobe aus *E. varium*. Lösungsmittel  $\text{D}_2\text{O}$

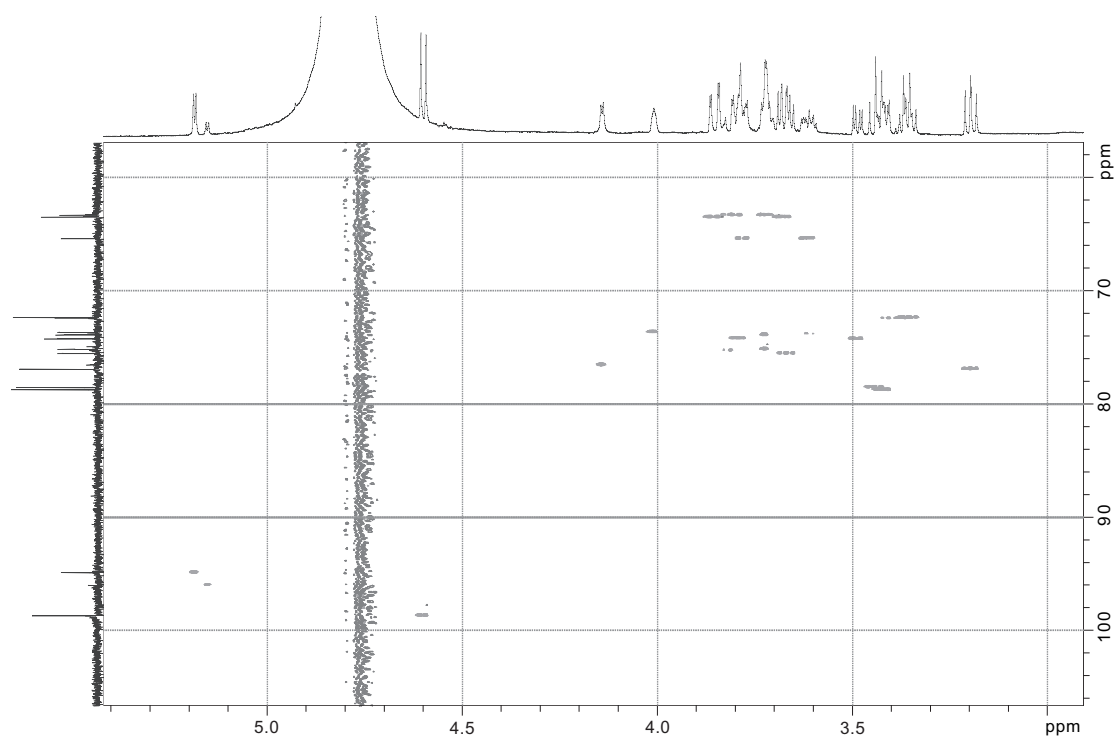


Abbildung A.11:  $^{13}\text{C},^1\text{H}$ -HSQC-NMR der Naturprobe aus *E. varium*. Lösungsmittel  $\text{D}_2\text{O}$

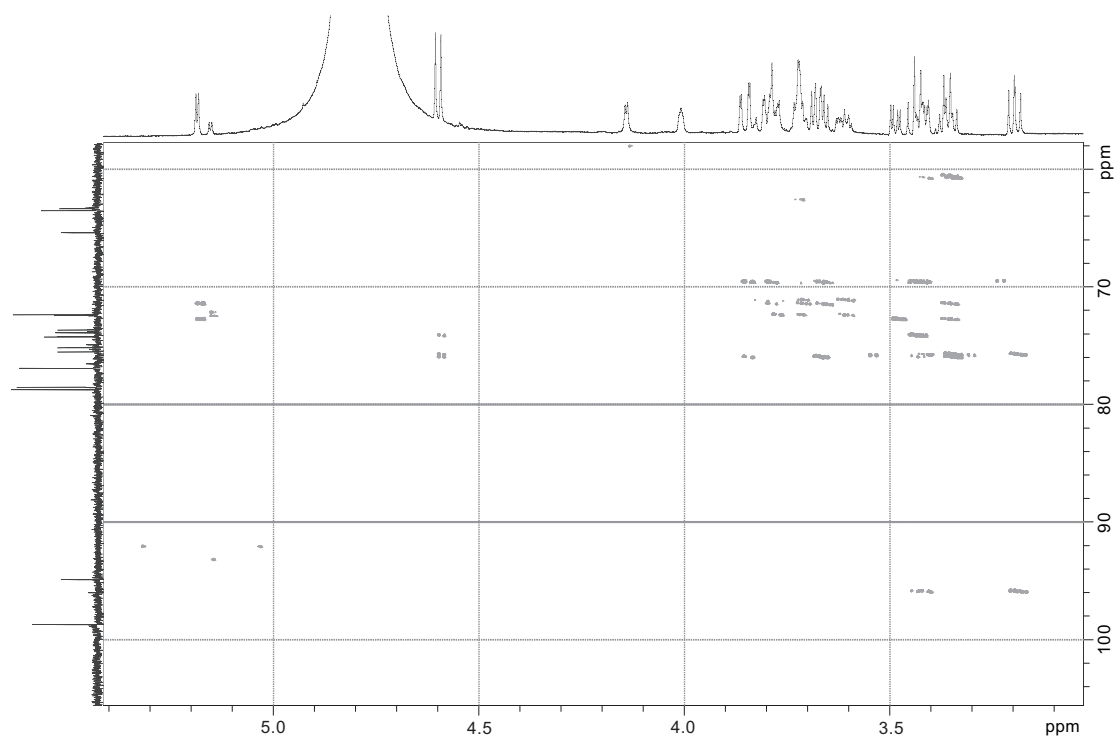


Abbildung A.12:  $^{13}\text{C},^1\text{H}$ -HMBC-NMR der Naturprobe aus *E. varium*. Lösungsmittel  $\text{D}_2\text{O}$

# Danksagung

Herrn Prof. Dr. Stefan Schulz danke ich für Überlassung des Thema, die stete Diskussionsbereitschaft und die freundliche Unterstützung. Für die Übernahme des Koreferats danke ich Frau Prof. Dr. Monika Mazik.

Den Kooperationspartnern Dr. Zdenek Růžicka aus České Budějovice, Prof. Dr. Michael Boppré aus Freiburg und Prof. Jeremy McNeill aus Quebec danke ich für die Zusammenarbeit und das Probenmaterial.

Den aktiven und ehemaligen Mitgliedern des Arbeitskreises Elena Bacari, Katalin Böröczky, Gregor Brasse, Satya Chinta Jereon Dickschat, Birte Flachsbarth, Stephan Goller, Christopher Häberlein, Jasmin Müller, Edyta Nagrodzka, Thorben Nawrath, Andreas Schmidt, Paul Sobik, Thies Schulze, Silke Thiel, Verena Thiel und Selma Yildizhan danke ich für die stetige Hilfsbereitschaft und freundliche Arbeitsatmosphäre. Mein Dank gilt auch Wiebke Pohl, die im Rahmen des OC-F Praktikums an der Entstehung von Teilen dieser Arbeit beteiligt war.

Den Mitarbeitern der NMR- und Massenspektrometrieabteilung danke ich für die Aufnahme der Spektren. Dem technischen Personal danke ich für die Hilfsbereitschaft.

Für das Korrekturlesen und die wertvollen Tipps bedanke ich mich bei Wiebke Pohl.

Einen besonderen Dank möchte ich meinen Eltern, meiner Schwester und meinem Schwager aussprechen, die mich die ganze Zeit unterstützt und persönlichen Rückhalt gegeben haben.

# Lebenslauf

## Persönliches

Name: Nico Klewer

Geboren: 01. 12. 1978 in Magdeburg

Familienstand: ledig

## Studium

10/1997–06/2003 Chemiestudium an der Technischen Universität Braunschweig

11/2002–06/2003 Diplomarbeit am Institut für Organische Chemie der TU Braunschweig,  
Betreuer: Prof. Dr. Stefan Schulz  
*Analyse der Inhaltsstoffe von Sonnenblumenpollen*

08/2003–dato Dissertation am Institut für Organische Chemie der TU Braunschweig,  
Betreuer: Prof. Dr. Stefan Schulz  
*Biologisch aktive Verbindungen in Chrysopidae, Coccinellidae und Lepidoptera*

## Schulbildung

1991-1997 Hegelgymnasium, Magdeburg

1988-1991 Wilhelm-Pieck-Oberschule, Magdeburg

1985-1988 Ernst-Brandt-Oberschule, Magdeburg